



VNiVERSiDAD D SALAMANCA

TESIS DOCTORAL:

“ESTUDIO CLÍNICO E INMUNOLÓGICO DE LA ACCIÓN DE ADALIMUMAB EN EL TRATAMIENTO DE LAS UVEÍTIS INMUNOMEDIADAS REFRACTARIAS.”

Autor:

Miguel Cordero Coma

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

El director del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de Salamanca,

Clemente Muriel Villoria

Los directores de esta tesis doctoral,

José María García Ruíz de Morales

Emiliano Hernández Galilea

ESTUDIO CLÍNICO E INMUNOLÓGICO DE LA ACCIÓN DE ADALIMUMAB EN EL TRATAMIENTO DE LAS UVEÍTIS INMUNOMEDIADAS REFRACTARIAS.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	8
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	12
RESUMEN.....	14
1-INTRODUCCIÓN:	18
A) LA UVEÍTIS.....	19
A.1) Definición, clasificación.....	19
A.2) Patogenia.....	20
A.3) Epidemiología: Impacto en salud pública.....	26
A.4) Aspectos generales del tratamiento de las uveítis.....	30
B) TERAPIA BIOLÓGICA EN UVEÍTIS.....	36
B.1) Definición, tipos y nomenclatura.....	36
B.2) Fundamentos de su uso en uveítis.....	36

B.3) Terapias biológicas y uveítis.....	39
C) FÁRMACOS ANTI-TNF.....	46
C.1) Factor de Necrosis Tumoral-Alpha (TNF α).....	46
C.1.1) Tipos de inflamación y mediadores: citoquinas inflamatorias.....	46
C.1.2) Biología del TNF α	48
C.1.3) Fisiología del TNF α	49
C.2) Introducción a los fármacos anti-TNF.....	49
C.2.1) Tipos, semejanzas y diferencias.....	49
C.2.2) Uso de anti-TNF en otras patologías inmunomediadas.....	54
C.2.3) Seguridad en el tratamiento con agentes anti-TNF: Efectos secundarios y consideraciones.....	59
C.3) Uso de fármacos anti-TNF en uveítis.....	63
C.3.1) Razones para su uso en uveítis.....	63
C.3.2) Valoraciones previas del uso de anti-TNF en uveítis.....	67
C.3.2.1) Cribaje de otras causas de uveítis: Infecciosas y neoplásicas.....	67
C.3.2.2) Cribaje de tuberculosis: Uveítis y tuberculosis.....	70
C.3.2.3) Otras consideraciones previas al uso de anti-TNF en uveítis.....	73
C.3.3) Resultados clínicos documentados sobre el uso de fármacos anti-TNF en uveítis: Actualización basada en la evidencia.....	76
2- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	86
2.1. Hipótesis.....	87
2.2. Objetivos del estudio.....	87

3- MATERIAL Y MÉTODOS	88
3.1. Tipo y diseño del estudio.....	89
3.2. Selección de pacientes.....	89
3.2.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	89
3.2.2. Características basales.....	89
3.2.3. Selección de controles (grupo esteroides).....	92
3.3. Evaluación oftalmológica. Variables de estudio.....	94
3.3.1. Agudeza visual.....	94
3.3.2. Exploración biomicroscópica.....	94
3.3.3. Tomografía de coherencia óptica.....	94
3.3.4. Angiografía fluoresceínica.....	94
3.3.5. Criterios de gradación de la inflamación.....	94
3.4. Evaluación inmunológica. Variables de estudio.....	96
3.4.1. Obtención y procesamiento de muestras.....	96
3.4.2. Determinación de subpoblaciones celulares.....	96
3.4.3. Determinación y caracterización de linfocitos T-reguladores.....	96
3.4.4. Determinación de citoquinas y quimioquinas.....	97
3.4.5. Determinación de reactantes de fase aguda.....	97
3.5. Retirada del estudio y uso de otros tratamientos concomitantes.....	97
3.6. Análisis estadístico.....	98
4- RESULTADOS	99

4.1. Resultados clínicos: Efecto del adalimumab sobre el curso clínico de diversos tipos de uveítis inmunomediadas.....	100
4.1.1. Grado de inflamación y agudeza visual.....	100
4.1.2. Tomografía de coherencia óptica y angiografía fluoresceínica.....	102
4.2. Resultados inmunológicos (I): Efecto del adalimumab sobre biomarcadores de respuesta inflamatoria.....	102
4.2.1. Reactantes de fase aguda.....	104
4.2.2. Citoquinas.....	105
4.2.2.1 IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF α	105
4.2.2.2 IL-22.....	107
4.2.2.3. Vascular endothelial growth factor (VEGF).....	110
4.2.3 Quimioquinas.....	110
4.2.4 Correlación clínica de los efectos inmunomoduladores observados.....	111
4.3. Resultados inmunológicos (II): Efecto del adalimumab sobre la respuesta inmune adaptativa.....	112
4.3.1. Poblaciones de Linfocitos T.: CD4, CD8, Linfocitos T activados.....	112
4.3.2. Linfocitos T-reguladores.....	113
4.3.3. Correlación clínica de los efectos inmunomoduladores observados.....	115
5-DISCUSIÓN.....	116
6- CONCLUSIONES.....	130
7- BIBLIOGRAFÍA.....	132

8-CONFLICTOS DE INTERESES	163
--	-----

9- ANEXOS	165
------------------------	-----

Con algunos de los datos obtenidos de la presente tesis se han elaborado los siguientes artículos científicos:

Artículo en *Ocular Immunology and Inflammation*: “Serum cytokine profile in adalimumab-treated refractory uveitis patients: decreased IL-22 correlates with clinical responses.” 2013 Jun;21(3):212-9.

Artículo en *Ophthalmology*: “Treatment of refractory uveitis with adalimumab: a prospective multicenter study of 131 patients.” 2012 Aug;119(8):1575-81.

Artículo en *Ocular Immunology and Inflammation*: “Systematic review of anti-tumor necrosis factor-alpha therapy for treatment of immune-mediated uveitis.” 2013;21(1):19-27.

Artículo en *Eye*: “Adalimumab specifically induces CD3(+) CD4(+) CD25(high) Foxp3(+) CD127(-) T-regulatory cells and decreases vascular endothelial growth factor plasma levels in refractory immuno-mediated uveitis: a non-randomized pilot intervention study.” 2012 Mar;26(3):468-77.

AGRADECIMIENTOS

A todos mis compañeros de los servicios de oftalmología e inmunología del Complejo Asistencial Universitario de León.

A Manuel Franco Benito, por querer y trabajar por formar un servicio ejemplar.

A Sara Calleja Antolín, por su gran ayuda en la consecución de esta tesis.

A Emiliano Hernández Galilea, co-director de esta tesis, por sus siempre acertados consejos y generosa ayuda.

A Chema, un gran científico y un buen amigo.

A Charles Stephen Foster, que me enseñó la luz en la oscuridad.

A mi familia, y en especial a Pepe, por su inmensa generosidad.

A Chulete, Gayo y Miche, sois las mejores personas que he conocido. Seguid siendo así siempre!

A Elena, por sacar lo mejor de mí, por hacerme descubrir lo importante de la vida, por ser como es.

ÍNDICE DE TABLAS

- 1- Esquema del manejo terapéutico clásico de las uveítis inmuno-mediadas.
- 2- Características principales de los cinco fármacos anti-TNF α disponibles comercialmente en la actualidad.
- 3- Resumen con los niveles de evidencia encontrados para los distintos agentes anti-TNF (Revisión sistemática de anti-TNF en uveítis).
- 4- Resumen de los efectos secundarios reportados en los diversos estudios y clasificados en función del agente que los produjo (Revisión sistemática de anti-TNF en uveítis).
- 5- Resumen de los diagnósticos específicos de todos los pacientes incluidos (Revisión sistemática de anti-TNF en uveítis).
- 6- Características de los pacientes antes del tratamiento con Adalimumab (Grupo adalimumab).
- 7- Características de los pacientes antes del tratamiento con Esteroides (Grupo esteroides).
- 8- Actividad inflamatoria y grosor macular central de los pacientes incluidos en el grupo de adalimumab en los diferentes momentos del estudio.
- 9- Efectos del tratamiento sobre los niveles séricos de reactantes de fase aguda.
- 10- Efecto del tratamiento sobre los niveles séricos de diversas citoquinas.
- 11- Efecto del tratamiento con adalimumab o esteroides sistémicos sobre los niveles de VEGF.
- 12- Efecto del tratamiento con adalimumab o esteroides sistémicos sobre los niveles de IL-22.
- 13- Efecto del tratamiento con adalimumab o esteroides sistémicos sobre los niveles de diversas quimioquinas.
- 14- Niveles de diversas subpoblaciones linfocitarias, de ambos grupos de pacientes, en los diferentes momentos del estudio.

ÍNDICE DE FIGURAS

- 1- Esquema de la patogénesis de las uveítis.
- 2- Esquema de la nomenclatura de los anticuerpos monoclonales.
- 3- Esquema de las diferentes formas etiopatogénicas de inflamación intraocular.
- 4- Cinética de producción de citoquinas tras inóculo sistémico de Lipopolisacárido bacteriano.
- 5- Diagramas simplificados de las moléculas de los cinco agentes anti-TNF.
- 6- Cinética de producción de citoquinas tras inóculo sistémico de Lipopolisacárido bacteriano.
- 7- Gradación de inflamación en cámara anterior según el grupo SUN.
- 8- Gradación de inflamación en cavidad vítrea según Nussenblatt et al (aceptado por el grupo SUN).
- 9- Paciente 12 del grupo tratado con adalimumab. Imágenes de polo posterior de ambos ojos antes (A) y tres meses después del tratamiento con adalimumab demostrando una total recuperación de la inflamación vítrea.
- 10- Paciente 10 del grupo tratado con adalimumab. Imagen de OCT del milímetro central macular (foveal) con estrategia “fast macula scan”. Obsérvese el evidente edema macular quístico en el ojo izquierdo antes del tratamiento (A), que había remitido completamente a los 3 meses de tratamiento (B).
- 11- Imagen biomicroscópica de polo posterior (izquierda) e imagen angiográfica (derecha) del paciente 11 del grupo tratado con adalimumab antes (A, a t_0) y después (B, t_1) del tratamiento con adalimumab. Obsérvense los signos de vasculitis activa antes del tratamiento (flechas), que remiten tras sólo 2 infusiones de adalimumab.
- 12- Niveles de diversas citoquinas en el grupo de pacientes tratados con adalimumab (adl) en los distintos momentos del estudio.
- 13- Imágenes de citometría de flujo. Niveles de T-regs correspondientes a un paciente representativo del grupo tratado con adalimumab (B), y otro del grupo tratado con

esteroides (C), antes (t_0 , imágenes de la izquierda) y después (t_1 , imágenes de la derecha) del tratamiento.

14- Porcentajes de T-regs en los pacientes del grupo de adalimumab y del grupo de esteroides, en los distintos momentos del estudio.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACAID: Inmuno-desviación inducida por cámara anterior.

AFG: Angiografía fluoresceínica.

AIJ: Artritis idiopática juvenil.

AR: Artritis reumatoide.

ATT: Tratamiento antituberculosos

AV: Agudeza visual.

BCG/BK: Bacilo de Calmette-Guerin/Bacilo de Koch (*Mycobacterium Tuberculosis*)

CTLA-4: Antígeno citotóxico del linfocito-T

DMAE: Degeneración macular asociada a la edad.

EA: Espondilitis anquilopoyética.

EAU: Uveorretinitis autoinmune experimental.

EMEA: Agencia europea del medicamento.

FAS/FAS-L: Proteína transmembrana tipo II perteneciente a la familia del TNF.

FDA: Agencia estadounidense del medicamento y alimentación.

FTA-abs: Anticuerpo fluorescente frente al treponema. Test treponémico de sífilis.

HACA: Anticuerpos anti-quiméricos humanos.

HLA: Antígeno leucocitario humano.

IFN α /IFN β /IFN γ : Interferon alpha, beta y gamma.

Ig: Inmunoglobulina (así en IgG: Inmunoglobulina G).

IGRA: *Interferon-gamma Release Assay*. Test de tuberculosis. Incluye T-SPOT.TB y QuantiFERON-TB

iNOS: Sintetasa inducible de óxido nítrico

IL: Interleuquina (así en IL-1 β : Interleuquina 1-beta).

IP-10: Proteína-10 inducible por interferon.

IRBP: Proteína de fijación del retinoide entre fotorreceptores.

LES: Lupus eritematoso sistémico.

MAVC: Mejor agudeza visual corregida.

MCP-1: Proteína-1 quimioattractante de monolitos.

MHA-TP: Microhemaglutinación del *Treponema Pallidum*. Test treponémico de sífilis.

MIG: Monoquina inducida por interferon-gamma.

NK: Linfocitos “natural killer”

OCT: Tomografía de coherencia óptica.

OMS: Organización mundial de la salud.

PCR: Proteína C-reactiva.

Pg/ml: Picogramos por mililitro.

PPD/Mantoux: Test de infección tuberculosa (inyección intradérmica de derivados de *M. Tuberculosis*).

RPR: Test de la “reagina plasmática rápida”. Test no treponémico de sífilis.

SAA: Amiloide sérico-A.

SUN: Estandarización para la nomenclatura de las uveítis.

TACE: Enzima convertidora de factor de necrosis tumoral-alpha.

TB: Tuberculosis.

Th: Linfocitos T-helper.

TNF/TNF- α : Factor de necrosis tumoral/Factor de necrosis tumoral-alpha.

TNFR: Receptor de membrana del factor de necrosis tumoral-alpha.

Tregs: Linfocitos T-reguladores.

UTB: Uveítis tuberculosa.

VDRL: *Venereal disease research laboratory*. Test no-treponémico de sífilis.

VEGF: Vascular endothelial growth factor.

VKH: Síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada.

RESUMEN

Justificación

Los estudios sobre el efecto de adalimumab en el tratamiento de las uveítis inmuno-mediadas son, en su mayor parte, series de casos retrospectivas y con un escaso número de pacientes. Además estos estudios se limitan a describir el efecto de este tratamiento sobre el curso clínico de la enfermedad con un escaso periodo de seguimiento.

Hasta ahora, y pese a los esperanzadores resultados apuntados por los estudios anteriormente mencionados, se conoce muy poco sobre los mecanismos de acción de este fármaco cuando se aplica al manejo de las uveítis inmuno-mediadas, y menos aún sobre la correlación entre dichos mecanismos y el curso clínico de la enfermedad.

En el presente estudio se ha pretendido profundizar en los posibles efectos inmunomoduladores del adalimumab cuando se emplea en el tratamiento de pacientes con uveítis inmunomediadas refractarias y su relación con la evolución clínica de la enfermedad.

Objetivos

Analizar los efectos clínicos (eficacia terapéutica) que el tratamiento con un agente anti-TNF (adalimumab) produce al emplearse en el manejo de pacientes con diversos tipos de uveítis inmuno-mediada refractarias.

Determinar y evaluar algunas de las vías de actuación, antiinflamatorias e inmunoreguladoras, utilizadas por adalimumab para generar los efectos clínicos observados. Para ello se estudiará el efecto de adalimumab sobre la respuesta inmune celular, así como el efecto sobre el perfil plasmático de las principales citoquinas, quimioquinas y reactantes de fase aguda implicadas en la inflamación intraocular. Además se estudiará la posible correlación entre los posibles efectos inmunomoduladores inducidos por adalimumab y la respuesta clínica del individuo a dicha terapia.

Material y métodos

Estudio prospectivo observacional no-randomizado de casos y controles de 6 meses de duración. Se incluyeron 22 pacientes con diversos subtipos de uveítis inmuno-mediadas que se asignaron a 2 grupos de tratamiento sistémico (adalimumab o esteroides).

Adalimumab (Humira ®), anticuerpo monoclonal humano anti-TNF α se seleccionó como terapia de rescate en uno de los grupos (12 pacientes) con uveítis refractarias a tratamiento inmunosupresor convencional. Todos ellos recibieron 40mg de adalimumab subcutáneo cada 14 días sin modificación de la pauta de tratamiento durante el periodo de estudio. En el grupo restante (10 pacientes), con historia de al menos 2 brotes de uveítis inmuno-mediada, se empleó prednisona a una dosis inicial de 1mg/Kg al día, que fue lentamente descendida en función de la actividad inflamatoria del cuadro ocular. Se seleccionó además un grupo de 25 pacientes sanos con edades comparables para ser utilizados como controles.

Todos los pacientes fueron evaluados clínicamente en tres ocasiones (al menos) durante el estudio. Respecto a la evaluación inmunológica, se tomaron 3 muestras en el grupo de adalimumab: Una obtenida inmediatamente antes de iniciar el tratamiento (t_0), otra obtenida al mes de iniciar el tratamiento (t_1) y otra obtenida a los 6 meses de iniciar el tratamiento (t_2).

Resultados

Un 66% (8/12) de los pacientes tratados con adalimumab experimentaron un control de la inflamación (biomicroscópico, angiográfico y por OCT) a t_1 , que se extendió al resto de los pacientes tratados con este fármaco (12/12) a los tres meses de tratamiento. Tras 6 meses de seguimiento (t_2), sólo un 25% (3/12) de los pacientes del grupo tratado con adalimumab sufrieron alguna recaída.

El estudio inmunológico de los efectos del tratamiento sobre la respuesta inmune celular reveló una ausencia de cambios sobre los valores basales (que a su vez no diferían entre los pacientes asignados a los dos grupos de tratamiento) de las poblaciones de linfocitos T CD4 y CD8 y linfocitos B. Tras un mes de tratamiento con adalimumab (a t_1), la mediana de los niveles de linfocitos T-reguladores (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{high} FoxP3⁺ CD127⁻) se incrementó significativamente sobre los niveles basales (a t_0 , $p=0.003$), y permaneció elevada tras 6 meses de tratamiento (a t_2 , $p=0.003$). Sin embargo no se

observó ningún efecto en los niveles de la población de T-regs en los pacientes del grupo de esteroides ($p=0.67$).

El estudio inmunológico sobre la respuesta inmune inflamatoria incluyó el estudio de diversos reactantes de fase aguda (amiloide sérico A, proteína C reactiva) así como numerosas citoquinas (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF α y VEGF). Este estudio reveló niveles basales elevados de IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , IL-12 e IL-22 en el grupo de pacientes con uveítis ($n=22$) que no se observaban en los controles sanos ($n=25$).

Tras 1 mes de tratamiento (a t_1), y sólo en el grupo de adalimumab (efecto específico de este tratamiento), se produjo un descenso significativo en las medianas de los niveles séricos de IL-6, IL-12p70, IL-22 y VEGF. No hubo cambios en el resto de citoquinas ni en los reactantes de fase aguda..

Tras 6 meses de tratamiento (a t_2), las medianas de niveles séricos de IL-22, IL-12p70 y VEGF habían descendido aún más al compararlas con t_1 . Sin embargo, IL-6 permanecía a niveles similares al compararla con los niveles basales. Finalmente, la mediana de niveles séricos de IL-10 estaba ahora significativamente descendida al compararla con los niveles basales. No se observaron cambios significativos en las otras citoquinas (IL-1 β , IL-17A y TNF α), ni en los reactantes de fase aguda.

Conclusiones

Adalimumab es una opción terapéutica aparentemente eficaz y segura en el tratamiento de uveítis inmuno-mediadas que han sido refractarias a otros tratamientos.

El tratamiento con adalimumab induce, de una forma específica e independiente de la enfermedad de base, una regulación de la respuesta inmune a varios niveles (celular y humoral).

En la respuesta inmune celular, adalimumab induce un aumento de T-regs que se correlaciona con la mejoría clínica y que persiste en el tiempo. El empeoramiento clínico de los pacientes tratados con adalimumab coincide con un descenso de T-regs.

En la respuesta inmune inflamatoria, adalimumab induce un descenso de IL-22 que se correlaciona con la mejoría clínica y que persiste en el tiempo. También induce un descenso de VEGF que se correlaciona con la mejoría clínica en un 50% de los

pacientes. El resto de cambios (descenso de los niveles de IL-6, IL-12 e IL-10) no correlaciona con la evolución clínica de la uveítis.

1-INTRODUCCIÓN

A) LA UVEÍTIS

A.1) Definición, clasificación.

“Úvea” es el término latino que designa la uva. En oftalmología, hace referencia a un conjunto de estructuras (iris, cuerpo ciliar y coroides) que constituyen la capa media del ojo, y que presentan un aspecto (en un corte histológico horizontal-meridional) semejante al de una uva. Aunque *sensu stricto* el término uveítis hace referencia a la inflamación de esa capa media del ojo, en la práctica clínica este término se emplea para referirnos también a los procesos inflamatorios que afectan a las estructuras adyacentes (vítreo, retina, nervio óptico y vasos sanguíneos).¹

Una primera clasificación de las uveítis se hizo atendiendo a su localización anatómica. Así, en 1987, el *International Uveitis Study Group* (IUSG), publicó unas guías para la evaluación de la enfermedad inflamatoria ocular, estableciendo una primera (al menos consensuada) clasificación anatómica de las uveítis². Básicamente, diferenciaba cuatro tipos de uveítis (anteriores, intermedias, posteriores y panuveítis), en función de la localización del tejido ocular afecto. Con posterioridad, el grupo SUN (*Standardization of Uveitis Nomenclature*), en 2005, matiza esa clasificación, haciendo una serie de recomendaciones referentes a la terminología, directrices de documentación de complicaciones, evolución y comunicación de resultados que hacen mucho más fácil la interrelación entre clínicos, el desarrollo de estudios multicéntricos y la posibilidad de avanzar en el conocimiento de esta patología.³ Aunque no está exenta de críticas,⁴ resulta ser la más aceptada en la actualidad.

Siguiendo la clasificación SUN,³ las uveítis anteriores, es decir aquellas que afectan al segmento anterior del ojo (iris, parte anterior del cuerpo ciliar), son sin duda las más frecuentes suponiendo en torno al 50-60% del total de las uveítis en centros sanitarios de tercer nivel.⁵ Las uveítis intermedias afectan a la porción anterior y periférica (parte posterior del cuerpo ciliar y vítreo) del segmento posterior ocular y serían el grupo menos frecuente de uveítis, suponiendo un 1-15% del total de uveítis.^{5, 6} Las uveítis posteriores suponen entre un 15 y un 30% del total de las uveítis, caracterizándose por afectar a la porción posterior del segmento posterior del ojo (retina, coroides). Finalmente las panuveítis, es decir, aquellas que afectan primariamente a todas las estructuras anteriormente citadas, supondrían en torno al 20-30% del total de las uveítis.

Una segunda clasificación de las uveítis es la que hace referencia a su origen etiológico, y de esta manera se habla de uveítis relacionadas con neoplasias, infecciones, traumatismos o procesos inflamatorios/inmuno-mediados. En este último caso, a su vez, podemos diferenciar aquellas que afectan al ojo de forma aislada, de los que lo hacen en el contexto de una enfermedad multisistémica (sarcoidosis, enfermedad de Behçet, espondiloartropatías, etc). Desde este punto de vista etiológico cabe destacar que la mayor parte de las uveítis, ya sean aisladas o asociadas a una enfermedad conocida, son inmuno-mediadas y especialmente en el caso de las anteriores.⁵⁻⁷ Sin embargo, en las posteriores, la etiología infecciosa es la más frecuente.^{5,8} Por ello, conviene resaltar las dificultades en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con uveítis que afectan al segmento posterior, ya que a priori pueden deberse con mayor frecuencia a múltiples causas y, como veremos en la sección dedicada a las implicaciones en salud pública de las uveítis, son también potencialmente más graves e invalidantes, con un mayor deterioro de la función visual.

A.2) Patogenia

Respecto a la patogenia de la enfermedad, conviene recordar que el ojo es considerado clásicamente un órgano con privilegio inmunológico,⁹ especialmente cuando nos referimos a la úvea anterior, lo que explicaría, por ejemplo, la baja tasa de rechazos en trasplantes de córnea o en implantes de esclera. De esta forma la respuesta ante un determinado antígeno será diferente en función de que la inmunización se produzca en la cámara anterior o por ejemplo en el tubo digestivo o en la piel.¹⁰ En el procesamiento antigénico a nivel de la cámara anterior del ojo ocurriría lo que se ha llamado *anterior chamber immune-deviation* (o ACAID según sus siglas en inglés), y haría referencia a una producción de anticuerpos tras el reconocimiento antigénico pero con ausencia de reacción de hipersensibilidad retardada frente a dicho antígeno.¹¹ Aunque la naturaleza del antígeno es probablemente importante en el privilegio inmunológico, sin embargo éste se ha observado con una gran variedad de antígenos, y está relacionado tanto con la fase aferente como con la efectora de la respuesta inmune. La desaparición de este “privilegio” determinará la ruptura de la barrera hemato-retiniana, dando lugar al fenómeno inflamatorio que caracteriza a la uveítis. Esto se debe, probablemente a múltiples desencadenantes, que abarcarían esos agentes etiológicos antes mencionados (traumatismos, infecciones, neoplasias, procesos inmuno-mediados), que desencadenarían, en algunos individuos genéticamente predispuestos, la pérdida de la

tolerancia hacia proteínas presentes en los tejidos oculares.¹² En esta pérdida de tolerancia tendrían lugar dos errores en los mecanismos de control y de reconocimiento de lo propio, de las células del sistema inmunitario:¹³

1) Por un lado no se habría producido la eliminación de linfocitos T autorreactivos en el timo (fallo en los mecanismos de tolerancia central).

2) Los linfocitos autorreactivos habrían escapado del segundo mecanismo de control, periférico (fallo en los mecanismos de tolerancia periférica), a lo que probablemente contribuya el hecho del “secuestro” (tras las firmes barreras hemato-oculares, como la hematorretiniana) de dichos antígenos respecto de las células del sistema inmune.

Esto causaría persistencia de linfocitos T “no-tolerantes” que podrían ser activados por cualquiera de los mecanismos antes mencionados. Estos mecanismos se han demostrado, por ejemplo, en modelos de uveítis autoinmune experimental (EAU) con ratones en los que uno de los principales antígenos implicados en las uveítis (la proteína retiniana IRBP) no se expresa en el timo (mediante un *knock-out* específico para IRBP). Al ser inmunizados con IRBP desarrollan uveítis especialmente severas.¹⁴ Y al contrario, la expresión forzada de antígenos retinianos como IRBP en tejidos periféricos (no inmuno-privilegiados) induciría una inmunotolerancia que prevendría la aparición de uveítis en esos mismos modelos.¹⁵

Los mecanismos inmunológicos que conducirían a la aparición y desarrollo de las uveítis en esos individuos con linfocitos T autorreactivos son, en gran medida, desconocidos, y su búsqueda ha propiciado en los últimos años un incremento exponencial de publicaciones científicas, sobre todo en base a modelos murinos de la enfermedad como la anteriormente mencionada EAU.¹⁶ Se sabe que la activación de células T tiene lugar fuera del ojo, de tal forma que éstas deben llegar y penetrar dentro del mismo para producir la enfermedad.¹³ La presencia de esas barreras hematorretinianas a las que antes aludía, que impiden la entrada libre de células T “naive” (o no activadas) y otras moléculas, sin embargo es ineficaz para prevenir la entrada de células T que han sido activadas, expresando determinadas moléculas de adhesión. Estas células T, ya en el interior del ojo, no producen la enfermedad por sí mismas sino a través de las citoquinas y quimioquinas que secretan una vez han reconocido el antígeno que las activó, estimulando así a otras células residentes cercanas así como a leucocitos circulantes que penetrarían en el ojo ante estas “señales” completando toda una cascada inflamatoria que amplificaría la inflamación inicial y produciría el daño tisular final. Esto último explicaría por qué aquellos tratamientos

dirigidos a inhibir el reclutamiento leucocitario (mediante el bloqueo de moléculas de adhesión o disminuyendo la población de un determinado subtipo linfocitario) mejoran el cuadro clínico pero no curan, dado que el problema subyacente, de pérdida de tolerancia y de presencia de células T autorreactivas en el ojo, persiste.¹³

Se sabe que las respuestas efectoras T antígeno-específicas pueden ser divididas en tres grandes clases (que difieren fenotípica y funcionalmente) en función de la estirpe celular que las produce, denominadas T helper (Th) 1, 2 y 17. De tal forma que, naciendo de un precursor común, y ante diferentes condiciones de estimulación, producirán un diferente perfil de citoquinas y quimioquinas en línea con sus distintos papeles biológicos para hacer frente a diferentes tipos de agresiones/infecciones. Pero además, cada uno de estos tipos de respuesta está característicamente involucrado en diferentes patologías, así Th2 en la alergia y el asma o Th1 en la esclerosis múltiple, por ejemplo.¹³ Se nos plantea pues la cuestión de cuál es la vía inflamatoria específicamente responsable de las uveítis.

Tradicionalmente se postulaba que el principal mecanismo inmunológico presente en el desarrollo de enfermedades autoinmunes no mediadas por anticuerpos, era la respuesta efectora Th1 mediada por linfocitos T CD4+, con el interferón-gamma (IFN- γ) como molécula implicada. Sin embargo, tanto para las uveítis,¹⁷ como para algunas enfermedades sistémicas inmuno-mediadas, cada vez más numerosas,¹⁸⁻²⁰ se ha demostrado la implicación de otra de las respuestas T-efectoras antes mencionadas, y más recientemente descrita) denominada TH17, con la Interleuquina-17 (IL-17) como molécula efectora.²¹

Así la implicación de ambas respuestas en la génesis y perpetuación de las uveítis también ha sido demostrada en modelos de EAU, en los que se ha evidenciado como el hecho de que la inmunización sea con IRBP emulsificado en adyuvante completo de Freund, o con IRBP en células dendríticas activadas y maduras in-vitro, dará lugar a un mismo espectro de enfermedad uveítica pero mediada por una respuesta Th1 predominante en el primer caso o Th17 predominante en el segundo.¹³ Es decir, que las uveítis puede ser Th1-mediadas o Th17-mediadas, y la respuesta efectora predominante estará en función de las condiciones de inmunización, y más en concreto de la cantidad y/o calidad de receptores TLR y otras señales innatas del receptor, así como del tipo y diversidad de células involucradas en la respuesta antigénica.¹³ La respuesta con linfocitos CD4+Th2 parece tener un papel menor en el desarrollo de las uveítis, aunque

sorprendentemente (y recientemente) se ha demostrado como son capaces de producirla cuando las otras dos vías (Th1 y Th17) están comprometidas.¹³

Dado que las uveítis pueden tener lugar mediante cualquiera de las tres respuestas, sorprende que no haya un mayor número de uveítis. Para entender esta cuestión, se debe tener en cuenta a un cuarto subtipo celular celular T (a sumar a los T CD4+ Th1, Th2, Th17) que serían las células T CD4+ reguladoras (Tregs), cuya principal misión será mantener el control sobre las respuestas T efectoras, e inhibir por lo tanto la aparición de enfermedades causadas por linfocitos autorreactivos, y entre ellas la uveítis.¹³ Estas células Tregs podrán tener un doble origen: Tímico o central (Tregs “naturales”), mediante un procesamiento y selección similar al resto de las células T, o periférico (Tregs “inducidas”) producidas a partir de células T convencionales como parte de la regulación normal de las respuestas inmunes. Parece que el ojo, y más concretamente, los fluidos oculares, sería capaz de inducir sus propias células Tregs a partir de células T convencionales en un proceso que formaría parte del ACAID al que se ha aludido anteriormente.²² Sin embargo, y a pesar de esta capacidad de generación de sus propias células Tregs, el ojo depende de las otras Tregs naturales ya que son éstas las que determinan el umbral a partir de la cual se producirá la uveítis en modelos de EAU.²³

Pero no sólo se ha demostrado la importancia de las células Tregs en modelos experimentales, sino que son ya varios los trabajos, en diferentes tipos de uveítis inmunomediadas, en los que se pone de manifiesto la disminución en la cantidad y/o alteración de la función de Tregs coincidente con los brotes de los pacientes con uveítis, resaltando su papel clave en la inhibición de estos procesos.^{24, 25} En esta línea, la investigación reciente nos muestra, en el modelo de EAU, cómo la recuperación en número y función de estas Tregs es coincidente con la recuperación de los mencionados pacientes.²⁶ Y aún más interesante, son los estudios que nos indican cómo las Tregs obtenidas y expandidas *in vitro* protegen de la uveítis una vez son infundidas en el individuo, en modelos de EAU, sugiriendo que ésta es una clara diana terapéutica a considerar en el futuro.²⁷ En definitiva, el descubrimiento de la existencia y funciones de las Tregs ha sido clave en el conocimiento de los mecanismos de regulación y defensa del organismo ante las uveítis, y, como veremos en el capítulo dedicado al estudio experimental de los agentes anti-TNF α para el tratamiento de las uveítis, una cuestión clave para entender el mecanismo de actuación de estos tratamientos.

Además de todas estas respuestas efectoras y de la subpoblación celular Tregs, habría otras muchas moléculas (citocinas, quimioquinas etc.) implicadas en la patogenia de las

uveítis. En el capítulo 3 de esta tesis se describe el papel clave que ejerce $TNF\alpha$ en la respuesta inflamatoria en general, y en las uveítis en particular. La lista de moléculas implicadas, y de vías de actuación sería interminable, pero a modo de ejemplo señalaremos algunas moléculas clave como la interleuquina IL6, producida por linfocitos T, monocitos/macrófagos y fibroblastos, implicada en la amplificación y cronificación de la respuesta inflamatoria,²⁸ y cuyo aumento en el vítreo se ha demostrado en pacientes con uveítis intermedias o posteriores.²⁹ O las moléculas de coestimulación como CTLA-4, fundamental para completar la activación de la célula T que se ha demostrado clave en modelos de uveítis experimental.³⁰

Por otro lado y aunque se ha demostrado el desarrollo de anticuerpos anti-retinianos en humanos y ratones con uveítis,^{31, 32} no son capaces por sí mismos de desarrollar la enfermedad.³³

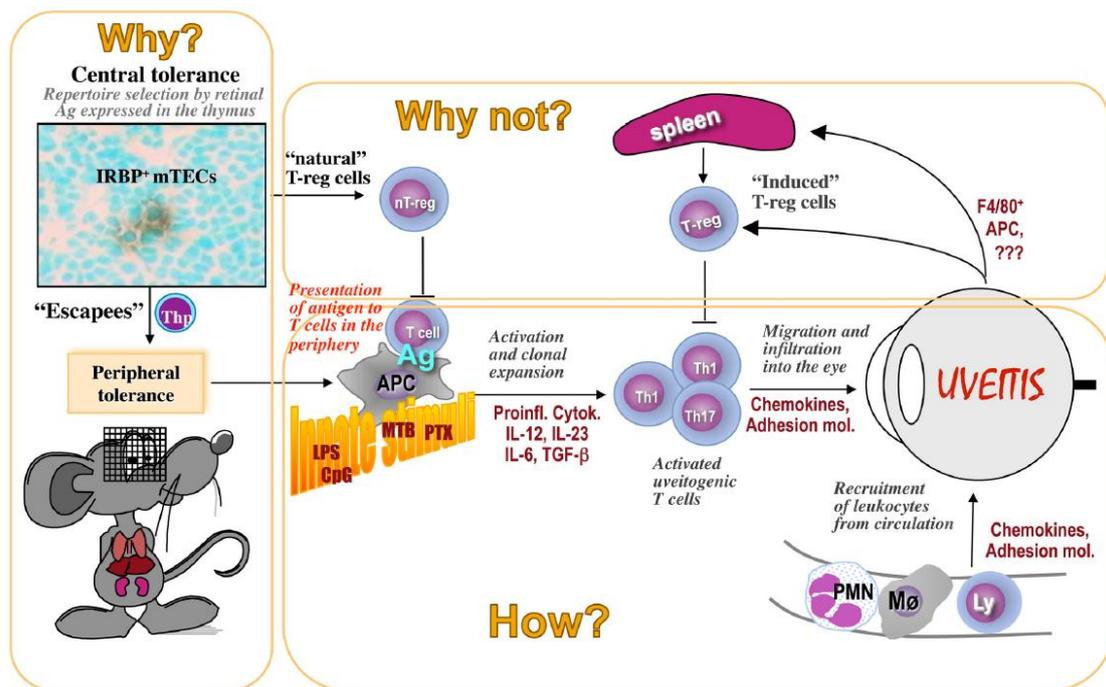


Figura 1. Esquema que expresa los puntos críticos en la patogénesis de las uveítis. Lo fallos en los mecanismos de selección negativa en el Timo resultarían en salida a la periferia de células T auto-reactivas frente a antígenos retinianos. Dado el aislamiento

de estos antígenos en el ojo (por la barrera hemato-retiniana), estas células T se activarían debido a un trauma o por mecanismos de reactividad cruzada en presencia de presencia de moléculas coestimuladoras, esquivando el control de las células T-reguladoras, y diferenciándose en células T efectoras. Tras la expansión de estas células, algunas alcanzarían el ojo, y resistiendo a los mecanismos reguladores locales, lograrían romper la barrera hemato-retiniana, reclutando células y moléculas pro-inflamatorias de la circulación. La inflamación resultante causaría daño al tejido y salida de antígenos oculares activando mecanismos de regulación sistémicos y locales. (Modificado de Caspi RR. Ocular autoimmunity: The price of privilege? *Immunol Rev* 213:23-35)

En la patogenia de las uveítis también serían de gran importancia los factores genéticos. La asociación entre diversos haplotipos del antígeno leucocitario humano (HLA según sus siglas en inglés) cuyos antígenos están codificados por genes localizados en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en el brazo corto del cromosoma 6 y la uveítis es un claro ejemplo de esta importancia. A pesar de los enormes esfuerzos en investigación clínica y básica, y de ser probablemente la asociación más sólida entre factores genéticos y uveítis que se conoce en la actualidad, los mecanismos moleculares y patogénicos exactos que explicarían esta asociación entre MHC y uveítis permanecen desconocidos.³⁴ En esta línea tenemos que destacar dos importantes asociaciones:

- 1) Un tipo de uveítis posterior, la retinocoroidopatía de Birdshot (o “en perdigonada”) con el haplotipo HLA A29+, relación descrita en 1982.³⁵ Se trataría de una de las enfermedades conocidas (no ya sólo uveítis) con más fuerte asociación con el complejo de histocompatibilidad (HLA) de clase I que se conoce en la actualidad, de tal forma que estaría presente en más del 95% de los pacientes con este tipo de uveítis.
- 2) La de las uveítis anteriores (asociadas o no a espondiloartropatía) con el haplotipo HLA B27+ descrita en 1973.³⁶ La presencia del antígeno HLAB27 es la causa identificable de uveítis anterior más frecuente que se conoce y representaría entre un 18-32% del total de uveítis anteriores en los países occidentales y entre un 6-13% en Asia.³⁴ Estas diferencias se explican, al menos en parte, por las notables diferencias en la prevalencia del HLA B27+

entre los países occidentales (entre un 8-10% del total de la población) y por ejemplo Japón (entre un 0.5-1%).

Pero además de estas asociaciones con los haplotipos del HLA, se han descrito otras posibles asociaciones en interesantes trabajos. Así el grupo de Nussenblatt, del *National Eye Institute* de EEUU, estudió el perfil de expresión de genes de un grupo de 50 pacientes con uveítis inmunomediadas, asociadas o no con otras patologías sistémicas, y observó perfiles de expresión de determinados genes, incluyendo IL22, IL19 e IL25/IL17-E, con una significativa mayor frecuencia por los pacientes con uveítis respecto a los controles sanos.³⁷ Aunque hay varios interrogantes abiertos al respecto, como si esos patrones se repetirían en un número mayor de pacientes, o si esos perfiles de expresión génica son constantes o dependen del estadio clínico, este trabajo supone uno de los primeros intentos por desenmascarar de un modo sistemático la relación entre los factores genéticos y las uveítis. El análisis genotípico de diversos polimorfismos en subpoblaciones con uveítis también se ha estudiado evidenciando escasos resultados hasta el momento.³⁸ Sin embargo, estos estudios abren una clara nueva vía para conocer mejor el origen de las uveítis.

A.3) Epidemiología: Impacto en salud pública

La incidencia de las uveítis en países desarrollados es de 17-52 casos por 100.000 habitantes y año y la prevalencia de 38-204 por 100.000 habitantes,⁷ aunque puede estar infraestimada puesto que las formas leves pueden remitir de forma espontánea, sin que el paciente solicite atención médica. A pesar de que puede afectar a pacientes de todas las edades, lo habitual es que se presente entre los 20 y 59 años⁵, de tal manera que las uveítis en niños y jóvenes de menos de 16 años solo serían el 5-10% de los casos⁶. En todos los grupos de edad predomina la uveítis anterior,⁵ que como antes veíamos supondrán en torno al 50-60% del total de las uveítis en centros sanitarios de tercer nivel. Las uveítis intermedias, posteriores y panuveítis supondrán un 1-15, 15-30 y 20-30% respectivamente. Al repasar los numerosos estudios epidemiológicos disponibles de las uveítis se aprecia una gran variabilidad en los resultados entre unos y otros en función de que éstos se realicen en centros sanitarios de tercer nivel (donde la proporción de uveítis anteriores es menor, en torno a un 50-60% del total) o en centros de atención primaria o ambulatorios (donde las uveítis anteriores suponen alrededor de

un 90% del total).³⁹ Pero hay otros factores que influyen en la gran variabilidad de los datos epidemiológicos de las uveítis, entre los que destacamos factores geográficos, socioeconómicos, genéticos y medioambientales que afectarían a los tipos, asociaciones clínicas y causas de uveítis en las distintas poblaciones.⁴⁰ Así es extremadamente raro ver un caso de uveítis secundaria a *Onchocerca Volvulus* en España, a pesar de que este parásito es el responsable de unos 270.000 casos de ceguera en el mundo (el 99% en África).⁴¹ Por otro lado, y como antes señalábamos al hablar de la patogenia de la enfermedad, las variaciones geográficas en la prevalencia del HLA B27+ son muy significativas entre continentes.³⁴

Lo que sí parece claro es que la incidencia de las uveítis, a raíz de estudios relativamente recientes como el de Gritz, es aproximadamente tres veces la establecida por estudios previos.⁷ También resulta curioso que la incidencia y prevalencia en grupos pediátricos fué significativamente inferior comparada con estudios previos, mientras que ambas fueron bastante superiores a lo previamente publicado en el grupo de pacientes mayores de 65 años.⁷

En el Complejo Asistencial Universitario de León, dónde se realizó este estudio, se llevan a cabo unas 180 consultas a pacientes con uveítis al mes (algo más de 2000 al año), repartidas en dos días de consulta monográfica a la semana. Del total de pacientes examinados en consulta, 17.4 al mes (unos 200 pacientes al año) son pacientes nuevos, aunque no necesariamente presentando un primer episodio de uveítis, dado que aproximadamente un 30% de éstos han sido atendidos en otros centros previamente. Se atiende una media de unos 300 pacientes/año, por lo que el ratio de consultas por paciente y año se situaría en torno a un 6.6. El número de consultas/revisiones está ligado al grado de control de las uveítis, de tal forma que aquellos pacientes que gozan de un buen control, acudirán mucho menos frecuentemente a la consulta. En base a nuestros datos, y en función de su localización, las uveítis anteriores son las más frecuentemente consultadas suponiendo un 53% de las consultas, mientras las uveítis que afectan al segmento posterior (incluyendo uveítis intermedias, posteriores y panuveítis) suponen el 47% restante. En las consultas de uveítis se valorarán otros pacientes con entidades inflamatorias clínicamente significativas no intra-oculares (escleritis, conjuntivitis cicatriciales, conjuntivitis no-cicatriciales refractarias al tratamiento convencional, queratitis etc). Estos últimos pacientes suponen, en el mismo

centro de León, alrededor de unas 200 consultas al año correspondientes a un *pool* (cambiante, con altas y bajas) de unos 40 pacientes.

En cuanto al origen etiológico de las uveítis, y siguiendo con los datos derivados de nuestro centro, se puede advertir que las uveítis idiopáticas y/o atribuidas a un desorden inmuno-mediado, son las más frecuentes (suponiendo algo más del 85% del total) y abundando especialmente entre las anteriores, mientras que las infecciosas son relativamente más frecuentes entre las que afectan al segmento posterior (intermedias, posteriores y panuveítis) suponiendo un 13% aproximadamente. Las uveítis traumáticas y neoplásicas suponen el 2% restante en las consultas de la Unidad de Uveítis.

La uveítis representa, en la actualidad, un importante problema de salud sobre todo, y más que por su mayor o menor prevalencia, por su capacidad de afectar la función visual. En la actualidad, se considera que es la causa del 10% de los casos de pérdida de visión total en los países occidentales, y de aproximadamente el 20% de los casos de ceguera legal.^{5, 42} Aproximadamente un tercio de los pacientes con uveítis sufre grave deterioro de su agudeza visual y/o ceguera legal debido a su enfermedad.⁴³

Un aspecto epidemiológico que conviene resaltar es que las uveítis están entre las cinco grandes causas de ceguera en pacientes con edades entre los 20-60 años: diabetes (20%), degeneración tapetoretiniana (20%), anomalías congénitas, (20%), uveitis (10%) y traumatismos (5%).⁴⁴ Pero sobre todo, que es la única de ese grupo, junto con la diabetes, potencialmente tratable, con las implicaciones que ello conlleva.

Hay consenso en la literatura científica sobre que la causa principal de pérdida de visión en los pacientes con uveítis es el edema macular, que según las diversas series, podría ser el responsable de más un tercio de las pérdidas significativas de agudeza visual en estos pacientes.^{42, 43, 45} Aunque ocurre de un modo preferente en uveítis que afectan al segmento posterior (y especialmente entre ellas en algunas como las pars planitis, la retinopatía en perdigonada o el Vogt-Koyanagi-Harada),⁴⁶ también se asociaría a uveítis anteriores (en aproximadamente un 11% del total de este tipo de uveítis),⁴⁵ y especialmente cuándo la uveítis anterior se asocia al haplotipo HLA B27, llegando a aparecer en un 30% de los casos.⁴⁷ Sobre los mecanismos que conducen a la formación del edema macular, parece que en las uveítis, como en otras patologías intraoculares, determinadas moléculas entre las que destaca el Factor de crecimiento del endotelio vascular *vascular endothelial growth factor* (VEGF) jugarían un papel determinante.⁴⁶

En las uveítis intervienen además otros mecanismos como el daño en la barrera hematorretiniana inducido por las células T activadas, tal y como se ha expuesto anteriormente, así como una serie de citoquinas y quimioquinas reclutadas por dichas células T.⁴⁶

La persistencia en el tiempo de un edema macular secundario a una uveítis ocasiona atrofia foveal.^{47, 48} Los factores que conducirían a esta atrofia foveal secundaria al edema macular uveítico son múltiples incluyendo disfunción y atrofia del epitelio pigmentario de la retina y coroides, isquemia macular, neovascularización coroidea y posiblemente un daño mediado por anticuerpos dirigidos frente a los fotorreceptores.⁴⁸ Las consecuencias de esta alteración anatómica sobre la función visual del paciente son también diversas, incluyendo inicialmente deterioro de la agudeza visual acompañado de trastornos en el campo visual⁵⁰ y en la capacidad de lectura,⁵¹ alterando poco a poco la función macular⁵² hasta producir, en fases avanzadas, la ceguera legal del paciente.⁴⁵ Globalmente considerado, el edema macular es el responsable de aproximadamente el 27% de las pérdidas de visión secundarias a las uveítis, cifra elocuente del impacto que esta complicación tiene en el contexto de una uveítis.⁴²

Durrani et al. analizan otras causas menos importantes de pérdida de agudeza visual como consecuencia de la uveítis, a partir de un estudio que incluye un grupo de 315 pacientes con un seguimiento de 36.7 meses, entre las que destacan la catarata asociada a edema macular (20% del total de pérdidas de visión) o aislada (17.7%), las opacidades vítreas (10.9%), la neuropatía óptica glaucomatosa y/o no glaucomatosa (10%), otra patología macular (cicatrices, agujeros etc.) (7.7%), el desprendimiento de retina (3.6%), y otros factores (3.1%).⁴²

Otro aspecto importante de la pérdida de visión secundaria a las uveítis es que en aproximadamente un 50% de los casos es bilateral.⁴² Considerando que aproximadamente un 70% de los pacientes experimentan pérdida de agudeza visual como secuela, este dato es también elocuente. Se considerarían factores independientes de mal pronóstico visual en el contexto de una uveítis el hecho de que ésta sea una panuveítis (respecto a otras localizaciones de la inflamación), que sea bilateral y que la pérdida de visión tenga larga evolución.⁴²

Desde un punto de vista económico-sanitario, y en base a la cifra antes mencionada del 10% del total de las cegueras en países occidentales, es posible calcular el coste que las

uveítis le supondrían al sistema en un país como EEUU. De esta forma, 2.700 millones de dólares anuales serían directamente atribuibles a los costes generados por las cegueras totales causadas por la uveítis. A éstos habría que sumar unos 830 millones de dólares anuales que la uveítis supondría por las pérdidas de productividad generadas, así como los cuidados derivados de las bajas laborales. En total, las uveítis le supondrían a las arcas estatales de EEUU unos 3.500 millones de dólares anuales, lo cual, extrapolado a España, supondría en torno a los 400 millones de euros anuales.²⁹

Por todo ello las uveítis suponen un problema relevante de salud pública que merece la atención de las autoridades sanitarias. Y uno de los principales mecanismos para afrontarlo con rigor es sin duda la formación de profesionales especializados en este problema y capaces de realizar un seguimiento de estos pacientes con rigor y excelencia científica. A pesar de lo que pueda pensarse, este es un objetivo todavía lejano, toda vez que los profesionales de otros países con mayor tradición en la formación específica de oftalmólogos para la subespecialidad de las uveítis como es EEUU, demuestran todavía un relativo desconocimiento de las pautas diagnóstico-terapéuticas correctas de actuación con los pacientes de uveítis.³⁰

A.4) Aspectos generales del tratamiento de las uveítis.

Pese a que el problema de las uveítis aparece ya reflejado en tratados de Hipócrates y Galeno, es a partir del siglo XIX cuando se comienzan a emplear terapias “modernas” y “específicas” frente a esta enfermedad.³¹ Así comienzan a emplearse sustancias para dilatar la pupila como la tintura de belladona.³² Pero no es hasta mediados del siglo XX con el descubrimiento de la eficacia de los corticosteroides en oftalmología,³³ cuando el manejo de los pacientes con uveítis sufre una verdadera revolución. También a mediados del siglo XX tienen lugar otros dos destacados avances: 1) Por un lado se introduce el ciclopentolato como agente midriático en la práctica clínica,³⁴ 2) Un español, Roda-Pérez, es el primero en tratar una uveítis idiopática con inmunosupresores sistémicos, en este caso mostazas nitrogenadas.³⁵ A partir de entonces, y gracias al enorme avance de la farmacología aplicada, la eclosión de nuevas terapias es imparable y, por ende, se suceden innumerables y diferentes tendencias en el tratamiento de estos pacientes.

A este tratamiento farmacológico habría que sumar el quirúrgico, foto-lumínico (láser), crioterapia etc., que, en general, se reservaba para complicaciones derivadas de las

uveítis. Dado que el objetivo de esta tesis gira en torno a los avances en el enfoque terapéutico farmacológico de las uveítis, no desarrollaré estos otros adyuvantes no-farmacológicos.

Clásicamente y de una forma esquemática, el tratamiento farmacológico de las uveítis inmuno-mediadas se ha hecho con agentes que se administraban por dos grandes tipos de vías:

- 1) Local y loco-regional: Colirios, inyecciones subconjuntivales/subtenonianas, inyecciones intravítreas, dispositivos intravítreos.
- 2) Sistémicos: Orales, subcutáneos, intramusculares, intravenosos.

Pues bien, tanto por vía local/loco-regional como por vía sistémica, han sido los corticosteroides (o corticoides) los fármacos preponderantes en el manejo clásico de estos pacientes con enfermedad activa.³⁶ Como es sabido, los corticoides son antiinflamatorios/inmunosupresores no específicos, es decir, mejoran el conjunto de signos propios de la inflamación independientemente del estímulo inflamatorio o proceso patológico. Esto conlleva una serie de ventajas (rapidez y potencia de acción, posibilidad de tratamiento “empírico” de la uveítis etc.), pero también una serie de inconvenientes, como luego veremos.

En general, la vía sistémica, se ha reservado para aquellas uveítis que cumplían alguno de estos dos requisitos:

- 1) Uveítis anteriores recidivantes, cuando presentan gran componente inflamatorio y/o son resistentes a la terapia local/loco-regional.
- 2) Uveítis que afecten al segmento posterior, en las que, en general, la terapia local/loco-regional tiene un papel más limitado.

En principio, el tratamiento corticoideo ya fuere tópico, loco/regional o sistémico, es suficiente para controlar una gran mayoría de las uveítis inmuno-mediadas, especialmente las que afectan al segmento anterior del ojo.³⁷ Sin embargo algunos pacientes requerirían tratamiento con otros fármacos inmunosupresores, que salvo raras excepciones, se administrarían siempre de forma sistémica. A modo esquemático, y siguiendo las directrices del manual de uveítis de la asociación americana de

oftalmología,³⁷ las cuatro principales razones que pudieren llevar a tratar un paciente con uveítis con tratamiento inmunosupresor sistémico serían:

- 1) Uveítis activa refractaria a tratamiento corticoideo.
- 2) Uveítis activa que por tener una historia natural conocida grave requiera un enfoque agresivo desde el inicio (por ejemplo la uveítis asociada al Behçet).
- 3) Uveítis activa con respuesta positiva a corticoides que no permite un correcto descenso de la dosis de los mismos.³⁸
- 4) Contraindicación relativa del uso de corticoides:
 - 4-A Enfermedades asociadas que desaconsejan su uso (diabetes, psicosis etc).
 - 4-B Inaceptables efectos secundarios asociados a uso previo de corticoides

En definitiva, la terapia alternativa con inmunosupresores queda, en general, relegada, desde el punto de vista del manejo clásico de estos pacientes, a una segunda alternativa terapéutica, para aquellos pacientes en los que los corticoides se han demostrado ineficaces, insuficientes y/o contraindicados. Son muchos los tratamientos inmunosupresores que se han utilizado hasta la fecha y también variados los resultados obtenidos y el grado de evidencia científica que aportaban los estudios que reflejaban dichas intervenciones.³⁸ En general, podemos señalar tres grandes grupos de inmunosupresores tradicionales, comúnmente usados en el manejo de las uveítis, en función del grado de recomendación (decreciente) derivado de la evidencia científica demostrada hasta la fecha:

- A) Grado A (alta recomendación, fuerte evidencia científica): Azatioprina, Ciclosporina-A (el único inmunosupresor con indicación aprobada para el tratamiento de las uveítis hasta la fecha).
- B) Grado B (media recomendación, menor evidencia): Metotrexate, Micofenolato mofetil.
- C) Grado C (baja recomendación, escasa evidencia científica): Tacrolimus, clorambucil, ciclofosfamida.

Sorprende el hecho de que sólo uno de estos fármacos tenga indicación para su uso en uveítis. Esto se explicaría por la gran heterogeneidad de los pacientes con uveítis, que dificulta tremendamente la realización de estudios prospectivos, randomizados con un número adecuado de pacientes que proporcionen la evidencia científica requerida. De hecho, una gran parte de los estudios publicados sobre el uso de estos tratamientos en pacientes con uveítis son estudios retrospectivos de casos.

Otro gran problema respecto al uso de inmunosupresores tradicionales, también derivado de la escasa evidencia científica existente respecto a su uso, es la falta de pautas universalmente aceptadas por las principales sociedades científicas respecto al uso de dichos fármacos. Así, al consultar los distintos tratados y estudios sobre el tema, uno se da cuenta de las múltiples dosis, vías de administración, tiempos de tratamiento etc., reportados/as, que dificultan mucho el extraer conclusiones claras sobre cuáles deben ser estas pautas de uso.

Por otro lado, el desconocimiento o la excesiva precaución que se advierte ante su uso (probablemente por sus potenciales efectos secundarios), así como la ausencia de unidades multidisciplinarias de uveítis en la mayor parte de los centros de este país, han llevado a dificultar aún más la generalización de esta “segunda etapa” en el manejo de las uveítis inmuno-mediadas que es el empleo de inmunosupresores no esteroideos.

Todo lo anterior explicaría por qué los corticoides continúan siendo el tratamiento utilizado en la mayor parte de los enfermos de uveítis aún incluso en aquellas situaciones en las que las principales sociedades científicas y paneles de expertos recomiendan el tratamiento con inmunosupresores tradicionales.³⁰ Y es en este difícil contexto en el que hay que entender cualquier avance en el manejo terapéutico de estos pacientes como es el objeto principal de esta tesis.

Todo nuevo tratamiento, además de demostrar la eficacia y seguridad requeridas por las autoridades sanitarias pertinentes, necesita de varios años de exitosa experiencia en unidades de uveítis consideradas de referencia, y de numerosas reuniones científicas y otros foros que sirvan de comunicación de estos resultados, antes de poder aspirar a que su uso se universalice, de forma que aquellos pacientes que cumplieren los requerimientos antes citados para recibir tratamiento inmunosupresor, pudieran beneficiarse de estas nuevas terapias.

Finalmente conviene mencionar una serie de opciones terapéuticas adicionales que, en general, se consideran coadyuvantes del tratamiento de base, ya sean corticoesteroides, inmunosupresores o ambos, del paciente con uveítis inmuno-mediada. En principio, el papel de estos coadyuvantes (que habitualmente se administran de forma local/loco-regional, aunque en algunos casos como la acetazolamida o la somatostatina de forma sistémica), como los inhibidores del VEGF, es muy limitado y parece tener sentido sólo cuando la uveítis está aparentemente controlada con el tratamiento de base antes mencionado.^{39,40} Se trataría de agentes encaminados a resolver complicaciones de la enfermedad como el edema macular, la neovascularización coroidea etc. Como casi todos los autores admiten,⁴¹ las pautas de utilización de dichos tratamientos son aún más variables y sujetas a la discrecionalidad de cada facultativo que las de los tratamientos de base, y por lo tanto dificulta aún más la estandarización del manejo de estos pacientes.

Por lo tanto, y a modo de resumen de lo anterior, podemos esquematizar el manejo de los pacientes con uveítis inmuno-mediadas en la Tabla 1:

Tabla 1

UVEÍTIS INMUNO-MEDIADAS

Manejo inicial con corticoides:

- 1) Tópicos
- 2) Sistémicos
- 3) Ambos

↓
Terapia coadyuvante y/o cirugía: En cualquier fase (si complicaciones, a criterio del facultativo)

Si:

- 1) Uveítis activa refractaria a tratamiento corticoideo.
- 2) Uveítis activa que por tener una historia natural conocida grave requiera un enfoque agresivo desde el inicio (por ejemplo la uveítis asociada al Behçet).
- 3) Uveítis activa con respuesta positiva a corticoides que no permite un correcto descenso de la dosis de los mismos.
- 4) Contraindicación del uso de corticoides

↓
Terapia coadyuvante y/o cirugía: En cualquier fase (si complicaciones, a criterio del facultativo)

Inmunosupresores no esteroideos
(pudiendo asociar corticoides)

B) TERAPIA BIOLÓGICA EN UVEÍTIS

B.1) Definición, tipos y nomenclatura.

Se denominan fármacos biológicos o biofármacos a aquellos obtenidos usando procesos biológicos en vez de químicos, elaborándose a partir de materiales vegetales o animales. Son productos mucho más complejos que los medicamentos convencionales (que tienen principios activos con moléculas pequeñas), teniendo un peso molecular mucho mayor y siendo fruto de mezclas de muchas especies moleculares con perfiles únicos de impureza, los cuales dependerán del proceso de manufactura, que será también extremadamente delicado.

El primer fármaco biológico aprobado para su comercialización y uso fue una insulina recombinante (Humulin®, aprobada en 1982 por la FDA). Desde entonces han sido aprobados cientos de fármacos de este tipo. Para asegurar la consistencia en las características de los productos finales y garantizar unos estándares de calidad en los perfiles de seguridad y eficacia, la aparición de los biofármacos ha exigido una regulación especial por parte de las autoridades sanitarias, que controlan desde la fuente del material, y pasando por la manufactura y formulación, hasta las condiciones de almacenaje.

Dentro de los fármacos biológicos podemos distinguir tres grandes grupos:

Anticuerpos monoclonales: De naturaleza humana o quimérica (mezcla de moléculas de origen humano con otras no humanas) dirigidos frente a moléculas específicas.

Proteínas recombinantes de fusión: Producto de técnicas de ingeniería genética en las que se combinan diferentes fragmentos peptídicos de una o varias proteínas dando lugar a estructuras proteicas recombinantes.

Interferones: Proteínas naturales formadas por la interacción entre eucariotas y virus, capaces de conferir, a través de la inducción de una respuesta inmune, resistencia a virus en células animales.

Los fármacos biológicos no sólo presentan características singulares en su origen, naturaleza y regulación, sino que también es singular su nomenclatura, que obedecerá a varios criterios perfectamente definidos por la organización mundial de la salud (OMS).⁶⁷

De esta forma el sufijo –pt, como en etanercept, hará referencia al origen de proteína de fusión, mientras que el –mab, al de anticuerpo monoclonal. Justo antes, la raíz –u-, por ejemplo, al carácter humano de la molécula (como en adalimumab), mientras otros

como el *-xi-* al carácter quimérico (como en rituximab), o el *-zu-* a agentes humanizados (como el ranibizumab). Podemos ver en la figura 2 un resumen de esta nomenclatura en los anticuerpos monoclonales.

Prefix	Target	Source	Suffix
<i>-vi(r)-</i>	viral	<i>-u-</i>	human
<i>-ba(c)-</i>	bacterial	<i>-o-</i>	mouse
<i>-li(m)-</i>	immune system	<i>-a-</i>	rat
<i>-le(s)-</i>	infectious lesions	<i>-e-</i>	hamster
<i>-ci(r)-</i>	cardiovascular	<i>-i-</i>	primate
<i>-fu(ng)-</i>	fungal	<i>-xi-</i>	chimeric
<i>-ne(r)-</i>	nervous system	<i>-zu-</i>	humanized
<i>-ki(n)-</i>	interleukin as target	<i>-axo-</i>	rat/murine hybrid
<i>-mu(l)-</i>	musculoskeletal	<i>-xizu-</i>	chimeric + humanized
<i>-o(s)-</i>	bone		<i>-mab</i>
<i>-tox(a)-</i>	toxin as target		
<i>-anib(i)-</i>	angiogenesis		
<i>-co(l)-</i>	colonic tumor		
<i>-me(l)-</i>	melanoma		
<i>-ma(r)-</i>	mammary tumor		
<i>-go(t)-</i>	testicular tumor		
<i>-go(v)-</i>	ovarian tumor		
<i>-pr(o)-</i>	prostate tumor		
<i>-ni(m)-</i>	miscellaneous tumor		

Figura 2. Criterios de nomenclatura de los anticuerpos monoclonales. (Tomado de: International nonproprietary names for monoclonal antibodies: IFMPA proposal. WHO Drug information, vol 22, no 2, 2008.)

B.2) Fundamentos de su uso en uveítis

Los avances en el conocimiento de la patogenia de las enfermedades inmuno-mediadas en general y la uveítis en particular han sido determinantes en esta cuestión. La patogenia de la uveítis, pese a presentar todavía muchos misterios, es hoy mucho mejor comprendida. A este avance ha contribuído enormemente la identificación de diversos agentes pro-inflamatorios (citoquinas, quimioquinas, factores de crecimiento etc) que se han identificado como capitales en los procesos de generación y perpetuación de las uveítis como por ejemplo el factor de necrosis tumoral-alpha ($TNF\alpha$) motivo de esta tesis,⁶⁸ pero también otras citocinas como IL6 o IL17,^{69, 70} y determinadas moléculas clave en la aparición de complicaciones secundarias a la inflamatoria uveítica como el factor de crecimiento del endotelio vascular.⁷¹ Este mejor conocimiento ha llevado a que se trate de controlar la enfermedad de un modo más específico, ajustándose a sus mecanismos patogénicos, y por lo tanto actuando sólo (o al menos mayoritariamente) sobre aquellas moléculas implicadas. Es decir, se trata de una terapia cada vez más a medida del enfermo (de sus características basales y de sus condiciones físicas, así como de otros condicionantes como su nivel cultural o la distancia a la que vive del centro sanitario) y de su enfermedad (cuyos mecanismos patogénicos y moléculas implicadas serán muy específicos).

Por tanto, podemos establecer *a priori* una serie de preceptos vinculados al tratamiento con biológicos, que explicarían el auge de su uso en uveítis:

- 1- Tratamientos más específicos (Inmunomodulación selectiva): Dirigidos frente a moléculas muy concretas que se han asociado a la patología concreta del paciente. Se ajustan, por tanto, a las bases patogénicas de la enfermedad.
- 2- Buen perfil de seguridad: No producen tanta inmunodepresión del paciente porque actúan en fases avanzadas de la respuesta inmune. Pese a que no están exentos de efectos secundarios (ver capítulo 3 de esta tesis con sección dedicada a ese respecto), éstos habitualmente son menos frecuentes y más llevaderos que los producidos por la gran mayoría de los inmunosupresores tradicionales incluídos los corticoides.

- 3- Eficaces: Como podremos observar más adelante, los fármacos biológicos están demostrando resultados excepcionales en el manejo de pacientes con diversas enfermedades inmuno-mediadas.
- 4- Rapidez de actuación característica: Muy importante, especialmente si se comparan con inmunosupresores tradicionales como el metotrexate, que exigen entre 7-10 semanas para evidenciar una respuesta clínica en el paciente.⁷² Como ya se ha explicado en el capítulo 1, el tiempo de evolución de la enfermedad es clave para prevenir sus potenciales y graves secuelas en el paciente, y por tanto los tratamientos que logran actuar rápidamente pueden ser cruciales en determinados casos.
- 5- Proporcionan una mayor calidad de vida a los pacientes con uveítis: Cuestión fundamental a la hora de elegir esta terapia en pacientes con uveítis crónicas de largo tiempo de evolución, especialmente en pacientes jóvenes y activos laboralmente.⁷³

Por todas estas razones, los fármacos biológicos resultan tremendamente atractivos y se han erigido como una clara alternativa a los fármacos inmunosupresores tradicionales para el manejo de los pacientes con uveítis.

B.3) Terapias biológicas y uveítis.

Son ya varios los fármacos biológicos que se usan para el tratamiento de las uveítis desde que se reportaron los primeros usos, específicos para esta enfermedad, con interferones (IFN α 2B) o anticuerpos monoclonales anti-IL2R (daclizumab) y anti-TNF α (infliximab y etanercept) a finales del siglo pasado y comienzos de este.⁷⁴⁻⁷⁷ Aquí repasaremos los grupos de biológicos más importantes y trataremos de reflejar su importancia actual basada en los trabajos disponibles en la literatura científica.

Fármacos inhibidores del TNF

El capítulo 3 está dedicado en exclusiva a reflejar todo lo concerniente a esta familia de biológicos. Simplemente señalar aquí que resultan ser el grupo de fármacos biológicos más importante y consolidado en el tratamiento de pacientes con uveítis.

Fármacos inhibidores del VEGF.

El factor de crecimiento endotelial vascular o VEGF es una glicoproteína fundamental en la regulación de la angiogénesis en el ser humano. En condiciones fisiológicas está implicada en la embriogénesis, curación de heridas e inflamación, mientras que en condiciones patológicas juega un importante papel en el crecimiento tumoral, artritis, enfermedades cardíacas y varias enfermedades oculares como la retinopatía diabética, degeneración macular asociada a la edad o en enfermedades vasculares oclusivas retinianas.⁷⁸⁻⁸¹ VEGF se expresa primariamente en las células endoteliales así como en pericitos, monocitos y células neurales, y los efectos se producen cuando se une a sus receptores en las células endoteliales vasculares. Los principales factores para la activación, producción y liberación del VEGF en el ojo son la isquemia/hipoxia retiniana, los procesos oxidativos y otros factores de crecimiento.^{78,79} Sus efectos titulares son sobre todo la angiogénesis, vasculogénesis, quimiotaxis, inflamación y neuroprotección. Existen 5 tipos de VEGF (A, B, C, D y E), a su vez con distintas isoformas, siendo el VEGF-A, y concretamente la isoforma 165, el tipo que está principalmente implicado en las patologías oculares.⁸² El VEGF-A ha demostrado ser una molécula clave en la aparición de una de las más graves y lesivas complicaciones asociadas a la uveítis, el edema macular, con un especial impacto negativo en la agudeza visual de estos pacientes.^{42,43,45} Son fundamentalmente dos los mecanismos a través de los cuales el VEGF influye decisivamente en la aparición del edema macular:

1) Inflamación: Rotura de la barrera hematorretiniana (zonulae occludens, zonulae adherens y macula adherens) por la unión de VEGF a leucocitos y reclutamiento/quimiotaxis al lugar de la inflamación. Se inducirá además una importante leucostasis y aumento de otras moléculas proinflamatorias.⁸²

2) Permeabilidad vascular: VEGF es unas 50000 veces más potente que la histamina en la inducción de permeabilidad vascular que conseguirá mediante varios mecanismos como el daño endotelial mediado por leucocitos, la disolución de las uniones estrechas endoteliales por fosforilación de la ocludina, la activación de la proteína kinasa C y la inducción de fenestraciones y organelas vesículo-vacuolares.

A partir de trabajos en los que se demostró cómo el VEGF está aumentado en el humor acuoso de pacientes con uveítis, pero particularmente en aquellos con edema macular cistoide uveítico,⁷¹ unido a los prometedores resultados al ser usada la terapia anti-VEGF en otras causas de edema macular como la obstrucción vascular retiniana,⁸³ o la

exudación macular secundaria a degeneración macular asociada a la edad,⁸⁴ se fraguó un estudio realizado por nosotros dentro del grupo de trabajo del Dr. Foster en Cambridge, Massachussets (USA), y que resultó ser el primer estudio publicado en la literatura científica (piloto no randomizado, no controlado) utilizando un agente inhibidor del VEGF, el bevacizumab, en inyección intravítrea, para el tratamiento del edema macular uveítico refractario al tratamiento convencional.⁶⁶ El bevacizumab (Avastin®, Genentech, Inc., South San Francisco, Ca, USA) es un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado dirigido frente a todas las isoformas del VEGF-A y que se aprobó originalmente para el tratamiento del cáncer de colon metastático.⁶⁶ Su uso en oftalmología para diversas patologías en las que, como ya hemos indicado en este capítulo, el VEGF es una molécula clave en su patogénesis, ha sido hasta ahora fuera de indicación, por lo que requiere preparación previa en condiciones de asepsia y antisepsia por personal cualificado a partir de viales destinados para su uso oncológico. Los otros agentes inhibidores del VEGF disponibles para su uso en oftalmología, pero con un uso escaso en la uveítis para el primero, y nulo para el segundo son:

1) Ranibizumab (Lucentis®, Genentech, Inc., South San Francisco, Ca, USA): También un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado frente a todas las isoformas del VEGF-A. En este caso si ha recibido aprobación, y por lo tanto está disponible comercialmente, para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad, la retinopatía diabética, y el edema macular asociado a las trombosis de vena retiniana. Su uso en uveítis, también intravítreo, ha sido menos extendido (probablemente relacionado con su significativamente mayor precio),⁸⁵ aunque parece que con resultados similares al bevacizumab.⁸⁶

2) Pegaptanib (Macugen®, Pfizer Inc, Midtown Maniatan, NY, USA): Es un aptámero pegilado anti-VEGF que inhibe la isoforma 165 (clínicamente la más importante) del VEGF-A. También disponible comercialmente y con indicación aprobada para el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía diabética, sin embargo ha demostrado una menor eficacia en el manejo de estos pacientes y se encuentra actualmente en un progresivo desuso.⁸⁷ No se ha reportado su uso en uveítis.

Fármacos inhibidores de la interleuquina 17 (IL17)

Como veíamos en la sección dedicada a patogenia de las uveítis en el capítulo 1 de esta tesis, la vía de los linfocitos T-helper 17 (Th17) es autosuficiente en la génesis de uveítis en modelos experimentales (sin necesidad de activación de la vía Th1), jugando un papel decisivo en la producción de uveítis.^{88,89} Dado que otros trabajos apuntan a

que este decisivo papel puede ser también jugado en el ser humano,⁷⁰ son varios los intentos (actualmente con varios ensayos clínicos en fases avanzadas) de dar con una molécula capaz de inhibir esta vía de generación de uveítis. En esta línea se están probando (y aparentemente con gran éxito, aunque todavía en un número escaso de pacientes) anticuerpos monoclonales anti-IL17,⁹⁰ así como anticuerpos monoclonales frente al receptor de la IL17.⁹¹

Recientemente se han publicado los resultados de tres ensayos clínicos multicéntricos, randomizados y controlados evaluando diversas dosis subcutáneas de secukinumab (anticuerpo monoclonal humano frente a IL-17A) en el tratamiento de uveítis activas no-infecciosas asociadas a enfermedad de Behçet (estudio SHIELD), de uveítis activas no-infecciosas no asociadas a Behçet (estudio INSURE), y de uveítis quiescentes no-infecciosas no asociadas a Behçet (estudio ENDURE).⁹² Estos estudios no han demostrado la superioridad de secukinumab frente a placebo en la reducción de brotes de uveítis que era el principal objetivo del estudio.

Fármacos inhibidores de linfocitos B

Rituximab (Rituxan® y Mabthera®) es un anticuerpo monoclonal quimérico frente al marcador de superficie CD20, presente exclusivamente en los linfocitos B. Rituximab fue aprobado originalmente en 1997, por la FDA, para el tratamiento de linfomas B resistentes a quimioterapia tradicional, y más tarde, para el tratamiento de la artritis reumatoide (AR).⁹³ Resulta curioso, pues la AR siempre se ha considerado un claro ejemplo de enfermedad mediada por linfocitos T. Probablemente la inhibición de las células B como presentadoras de antígeno, así como el efecto regulador de la población B sobre la T explicarían estos resultados.⁹⁴ Aunque la experiencia en el uso de rituximab para el tratamiento de las uveítis es escasa, son especialmente prometedores sus resultados en uveítis refractaria secundaria a Behçet,⁹⁵ y a artritis idiopática juvenil.⁹⁶ Por otro lado conviene destacar los excelentes resultados en procesos inflamatorios oculares no uveíticos como la enfermedad orbitaria inflamatoria o la escleritis (especialmente las asociadas a vasculitis-ANCA positivas).⁹⁷⁻⁹⁹

Fármacos inhibidores de IL2

Daclizumab (Zenapax®) es un anticuerpo monoclonal humanizado frente a la subunidad alfa de receptor de IL2, usado por linfocitos T, con lo que en la práctica es un inhibidor de células T. Originalmente aprobado para prevenir rechazos tras trasplantes (en especial de riñón),⁹⁹ fue uno de los primeros fármacos biológicos reportados en la literatura científica para el tratamiento de las uveítis.⁷⁵ Inicialmente utilizado también

por vía subcutánea,¹⁰⁰ se prefirió posteriormente la vía intravenosa.¹⁰¹ Daclizumab demostró más que prometedoros resultados en el manejo de diversos tipos de uveítis refractarias.^{100, 101} Sin embargo en 2008 Hoffmann-La Roche, la compañía que comercializaba el daclizumab en Europa, lo retiró del mercado por cuestiones comerciales, sin que en este momento se encuentre disponible para su uso terapéutico.

Interferones

Los interferones son proteínas naturalmente producidas por células animales ante la interacción con virus. De forma recombinante se han obtenido varios tipos de interferones, pero son el alfa y el beta (IFN α y $-\beta$), los dos de tipo 1, los que realmente se han utilizado en medicina. Originalmente utilizados para el tratamiento de la hepatitis crónica por virus B,¹⁰² posteriormente sus aplicaciones terapéuticas han sido muy diversas, incluyendo en especial la esclerosis múltiple (con IFN β) y otras enfermedades inmunomediadas.¹⁰³

IFN α :

El primer trabajo reportado sobre el uso de IFN α para el tratamiento de las uveítis aparece en 1994 (concretamente IFN α 2B),⁷⁴ desde entonces han sido muchos los trabajos en los que IFN α ha demostrado una contrastada eficacia (sobre todo IFN α 2A) en el tratamiento de uveítis, especialmente aquellas asociadas a la enfermedad de Behçet,¹⁰⁴ pero también en otras uveítis refractarias o en el tratamiento específico del edema macular uveítico.^{105,106} El uso de IFN α ha sido tradicionalmente asociado a frecuentes efectos secundarios, normalmente dosis-dependientes y que no exigen detener el tratamiento, como los síntomas pseudogripales, la depresión, o el desarrollo de tiroiditis subclínicas.¹⁰⁷ Sin embargo, éstos le han dado a este tratamiento una “mala prensa”, que poco a poco va desapareciendo a medida que diversos trabajos de centros de todo el mundo avalan su eficacia. En esta línea, la terapia con IFN α se ha erigido como una de las más prometedoras, por supuesto junto con los anti- TNF α , en el contexto del manejo de las uveítis con fármacos biológicos.

IFN β

El uso de este otro interferon, también de tipo 1, y con un perfil de actuación y de seguridad bastante parecido, se ha ceñido casi exclusivamente al tratamiento de uveítis en el contexto de esclerosis múltiple.¹⁰⁷ Pese a algunos trabajos que presentan resultados muy prometedoros en modelos experimentales,^{108,109} su uso en humanos está mucho menos consolidado que el del IFN α .

Fármacos inhibidores de IL6

IL6 es una proteína pleiotrópica que se ha relacionado con la hematopoyesis, la respuesta de fase aguda y la inflamación.¹⁰⁷ En cuanto a las uveítis, se ha demostrado cómo IL6 se encuentra elevada en el humor acuoso de la fase aguda inicial en modelos de uveítis autoinmune experimental,¹¹⁰ pero también en el humor vítreo de los pacientes con uveítis intermedias y posteriores.²⁹ Tocilizumab (Actemra®) es un anticuerpo monoclonal humanizado frente al receptor de IL6 (IL6R). La experiencia con este fármaco para el tratamiento de las uveítis es todavía muy limitada,¹¹¹ aunque prometedora vistos sus resultados en otros procesos inmunomediados como la artritis reumatoide.¹¹²

Fármacos que actúan sobre moléculas accesorias

Se denominan moléculas de coestimulación a aquellas que contribuyen a la activación de la célula T-“naive” (virgen, no estimulada previamente) en el contexto de reconocimiento por parte del receptor de célula T/Complejo mayor de histocompatibilidad de la célula presentadora de antígeno.¹⁰⁷ En este contexto, CTLA-4, una de estas moléculas de coestimulación, es fundamental para completar la activación de la célula T, lo cual se ha demostrado clave en modelos de uveítis experimental.¹¹³ Abatacept (Orencia®) es una proteína de fusión compuesta por una inmunoglobulina fusionada al dominio extracelular de CTLA-4. Abatacept ha sido aprobada para el tratamiento de la artritis reumatoide refractaria,¹¹⁴ y ha demostrado su eficacia en el manejo de pacientes con otras enfermedades inmunomediadas como la artritis idiopática juvenil.¹¹⁵ Para el manejo de la uveítis, abatacept ha demostrado su eficacia en uveítis asociadas a artritis idiopática juvenil refractarias al tratamiento convencional.^{116,117}

Otros fármacos y dianas terapéuticas

Son numerosos los fármacos biológicos que podríamos incluir aquí, aunque en su mayoría carecen de experiencia contrastada para el manejo de uveítis en humanos. Así podríamos hacer referencia a fármacos inhibidores de moléculas de adhesión como el anticuerpo monoclonal humanizado frente a alfa-4 integrina natalizumab (Tysabri®), que ha demostrado interesantes resultados en el tratamiento de la esclerosis múltiple,¹¹⁸ o fármacos inhibidores de linfocitos T (por unión a CD2+) como la proteína de fusión alefacept (Amevide®) que ha demostrado buenos resultados en psoriasis.¹¹⁹

Resulta interesante resaltar que podemos fijarnos otras dianas terapéuticas con fármacos ya disponibles y consolidados. De esta forma, no sólo la exploración clínica sería la

clave para tomar decisiones respecto a poner, quitar, aumentar o disminuir un determinado fármaco sino otros factores que ya han sido evidenciados como capitales en la evolución de las uveítis como pueden ser los niveles de determinadas citoquinas involucradas en inflamación (como IL6 o IFN γ)¹²⁰ o los niveles de linfocitos T reguladores (ver capítulo 1, patogenia de las uveítis) que, como quedará expuesto en los resultados de esta memoria, resultan clave en el control de la uveítis.

C) FÁRMACOS ANTI-TNF.

C.1) Factor de Necrosis Tumoral-alpha (TNF- α).

C.1.1) Tipos de inflamacion y mediadores: citoquinas inflamatorias.¹²¹

Toda respuesta inflamatoria se caracteriza por vasodilatación, aumento de permeabilidad vascular y consecuentemente extravasación de células y proteínas desde la circulación hacia los tejidos. Las acciones biológicas de estas proteínas junto con la activación de las células extravasadas van encaminadas a eliminar la noxa inductora y/o provocar la adecuada reparación tisular sin ocasionar daño al parénquima. Esta respuesta puede ser iniciada de forma inespecífica, así por ejemplo un traumatismo, cirugía, agentes físicos, químicos, o bien de forma específica por un antígeno, en el marco de una respuesta inmune mas elaborada (respuesta inmune adaptativa) en la que participen además linfocitos T y B antígeno-específicos, por ejemplo por un agente infeccioso o por una respuesta autoinmune (Figura 1). Sea de una u otra manera, los efectores últimos responsables de la respuesta inflamatoria, y de la lesión tisular cuando ésta se perpetúa en el tiempo, son comunes y producidos tanto por los leucocitos polimorfonucleares, macrófagos, mastocitos que infiltran el tejido como por las propias células residentes en el mismo. Incluyen preferentemente citoquinas inflamatorias, metaloproteasas, colagenasas, prostaglandinas y tromboxanos, histamina, óxido nítrico y radicales libres entre otros mediadores. En este contexto, el papel de la respuesta inmune adaptativa es amplificar la respuesta (mayor producción de citoquinas inflamatorias, inducción de quimioquinas que recluten más células al foco), y diversificar los mecanismos efectores de forma antígeno-específica (infiltración por eosinófilos, linfocitos TH1, TH2 o TH17, citotoxicidad mediada por linfocitos T CD8+, producción de anticuerpos específicos).

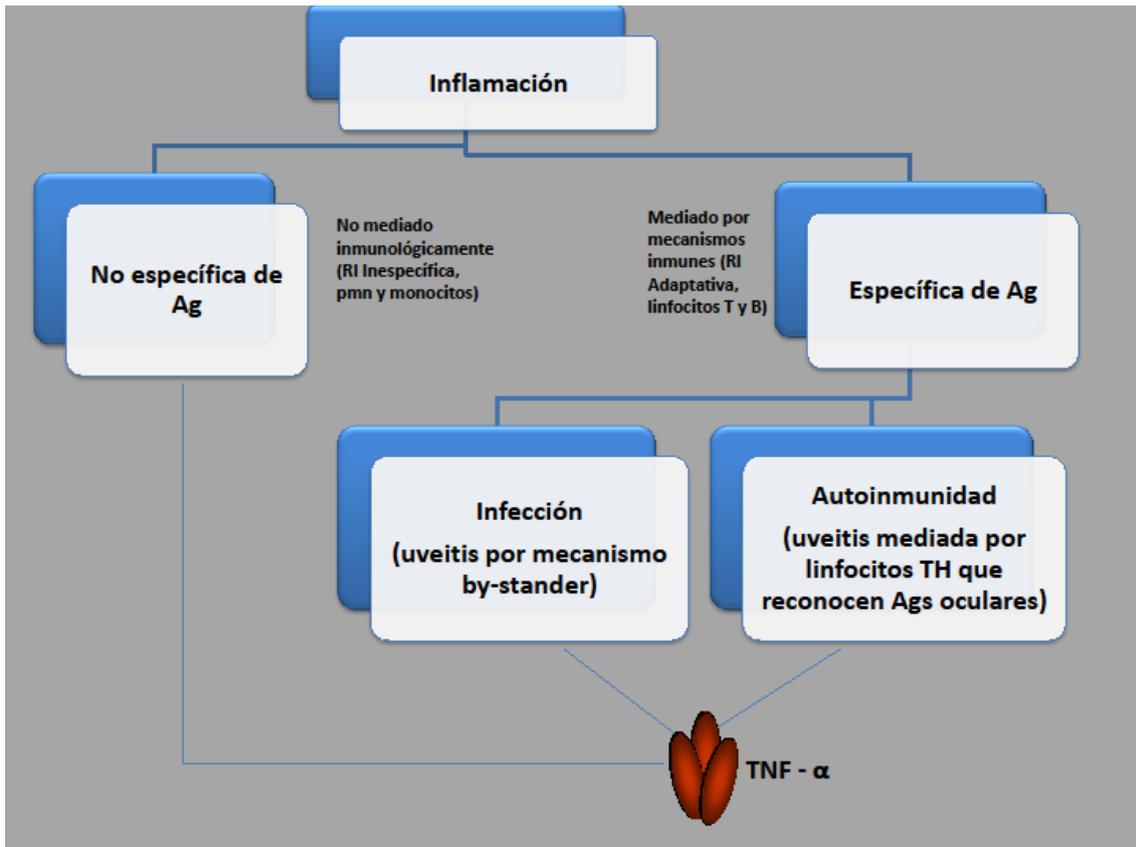


Figura 3. Esquema de las diferentes formas etiopatogénicas de inflamación intraocular.

Las distintas citoquinas y quimioquinas (citoquinas que median atracción de otros leucocitos al foco) producidas localmente por las células extravasadas o por las células residentes en el tejido afecto, son las proteínas sobre las que pivota toda la respuesta inflamatoria. Se trata de proteínas que ejercen un papel clave en la comunicación intercelular actuando de forma local, no sistémica. De forma simplificada se considera que en la compleja cascada de los mediadores de la inflamación, el TNF- α juega un papel preeminente tanto porque es la citoquina que se produce más precozmente (Figura 2) como por su capacidad para actuar sobre la práctica totalidad de las células, pues todas ellas expresan receptores específicos para TNF- α .¹²²

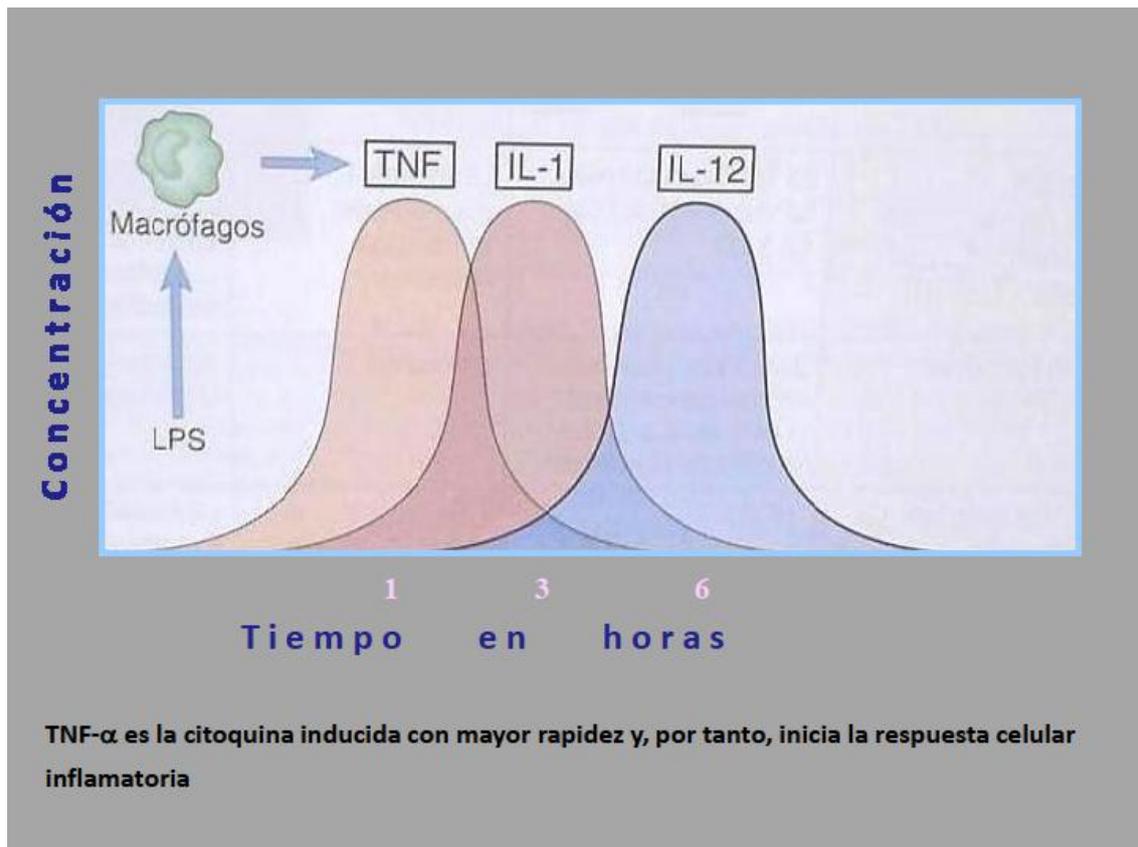


Figura 4: Cinética de producción de citoquinas tras inóculo sistémico de Lipopolisacárido bacteriano. ^{121,122}

C.1.2) Biología del TNF- α . ¹²²

TNF- α es sintetizado inicialmente como una proteína de membrana. Por acción de la metaloproteasa TACE se fragmenta liberándose la fracción soluble. Ambas formas, soluble y de membrana, son funcionales en forma de trímeros (tres moléculas). Ejerce sus funciones mediante la interacción con receptores específicos de membrana – TNF RI y TNFR II –, ubicuamente expresados en la mayoría de las células y que inducen en la célula diana señales diferentes de muerte celular y activación (RI) o de proliferación (RII). Estos receptores también están presentes de forma constitutiva (fisiológica) como receptores solubles (sTNF-R), asimismo capaces de unirse a TNF- α . Esta interacción entre TNF- α y su receptor soluble permite mantener la cantidad de TNF- α dentro valores no patológicos.

En el ojo se ha demostrado que las células del epitelio pigmentario de iris, cuerpo ciliar y retina expresan en condiciones basales receptores tipo I y II de TNF. Además, estas

mismas células son capaces de producir constitutivamente TNF- α y metaloproteasas capaces de escindirlo de la membrana celular. TNF- α es esencial en la formación de la ACAID y en la autoregulación de la apoptosis fisiológica de las células oculares residentes por un mecanismo FAS-FAS-L independiente.

C.1.3) Fisiología de TNF- α .¹²²

En primer lugar conviene señalar que TNF- α además de su papel como mediador clave en inflamación, es una potente citoquina pleiotrópica, multifuncional, que ejerce funciones homeostáticas fundamentales en la fisiología del Sistema Inmune, entre ellas:

1. Defensa del huésped frente a infecciones: El TNF- α es primordial en la respuesta del huésped, particularmente frente a infecciones por patógenos intracelulares como virus (así el de la hepatitis B o C) como para algunas bacterias (como las micobacterias y en especial *M. tuberculosis*).
2. Formación del tejido linfoide, especialmente de los ganglios linfáticos: Que, como es evidente, resulta fundamental en la respuesta inmune.
3. Inducción de muerte celular programada (apoptosis), fundamental para mantener el balance de recambio homeostático.

En condiciones fisiológicas, TNF- α es producido basalmente en pequeñas cantidades por la mayor parte de las células del sistema inmune, aunque también por otras células de estirpe no inmunológica. Esta producción constitutiva es responsable de sus funciones fisiológicas, durante las que no se detecta TNF- α en sangre. Ante un estímulo inflamatorio, por ejemplo un traumatismo, pero también un proceso autoinmune (así en el contexto de una AR) las principales células productoras, en este caso de elevadas cantidades de TNF- α , son los macrófagos tisulares activados, los linfocitos T y NK, así como los mastocitos y las células endoteliales. En estas condiciones, sí pueden detectarse cantidades significativas de TNF- α circulante.

C.2) Introducción a los fármacos anti-TNF

C.2.1) Tipos, semejanzas y diferencias.

Aunque no todos ellos se han usado para el tratamiento de las uveítis (como veremos en el capítulo de revisión sistemática de los trabajos publicados sobre anti-TNF para el tratamiento de las uveítis), son cinco los fármacos inhibidores del TNF- α disponibles comercialmente en la actualidad:

Infliximab (Remicade, Schering-Plough/MSD, USA), Adalimumab (Humira, Abbott, USA) y Golimumab (Simponi, MSD, USA) son anticuerpos monoclonales específicos frente al TNF. Etanercept (Embrel, Wyeth/Pfizer, USA) es una proteína de fusión producto de la ingeniería genética formada por la fracción constante IgG1 humana unida al gen humano del receptor soluble del TNF (TNF RII). Certolizumab pegol (Cimzia, UCB, Bélgica) es un fragmento de fracción variable de anticuepo monoclonal anti-TNF unido a polietilenglicol.

En la tabla 1, podemos apreciar las principales semejanzas y diferencias existentes entre ellos. En este capítulo vamos a abordar, más en profundidad, lo que dichas diferencias van a suponer en todos los sentidos.

Es importante destacar que, de los cinco, tres han sido claramente más utilizados en la historia reciente lo que, al menos en parte, se explica por su anterior aparición:

1) Infliximab, aprobado inicialmente por la *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) para tratamiento de enfermedad de Crohn en 1998,¹²³ obteniendo luego aprobación por el mismo organismo para el tratamiento de otras enfermedades: Psoriasis, espondilitis anquilopoyética, artritis psoriásica, artritis reumatoide y colitis ulcerosa).

2) Etanercept, aprobado inicialmente por la FDA para el tratamiento de artritis reumatoide en 1998,¹²⁴ más adelante recibió también aprobación por el mismo organismo para el tratamiento de artritis idiopática juvenil, artritis psoriásica, espondilitis anquilopoyética y psoriasis.

3) Adalimumab, aprobado inicialmente por la FDA para el tratamiento de la artritis reumatoide en 2002,¹²⁵ más adelante recibió también aprobación por el mismo organismo para el tratamiento de artritis psoriásica, espondilitis anquilopoyética, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis y artritis idiopática juvenil.

Sin embargo, golimumab^{126,127} (aprobado en 2009 por la FDA para tratamiento de la artritis reumatoide y más adelante también para artritis psoriásica y espondilitis

anquilopoyética) y certolizumab ^{128,129} (aprobado en 2008 por la FDA para el tratamiento de la enfermedad de Crohn, y en 2009 por la *European Medicines Agency* (EMA) para el tratamiento de artritis reumatoide) son fármacos relativamente nuevos y, por lo tanto, mucho menos utilizados para el tratamiento de enfermedades inmuno-mediadas en general, y de uveítis en particular. Así, podemos encontrar (búsqueda realizada en medline en la primera semana de Junio de 2013) unos 725 artículos sobre el uso de infliximab, adalimumab y etanercept en uveítis mientras que sólo cuatro sobre golimumab, el primero de ellos fue publicado por nosotros (junto al grupo del Dr Díaz Llopis de Valencia), ¹³⁰ y ninguno de Certolizumab.

Inmunogenicidad

Dado que infliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico con componentes de ratón en su fracción variable, es de esperar que su administración repetida genere la producción de anticuerpos (denominados anticuerpos anti-quiméricos humanos o HACA, según sus siglas en inglés), y así se ha observado en la práctica clínica. La prevalencia de los HACA varía según estudios y enfermedades, pero se ha estimado en torno a un 14-20% en artritis reumatoide. ¹³¹ La inmunogenicidad de infliximab puede verse reducida al utilizar dosis mayores, sin que haya una razón demostrada para ello. ¹³² En esta misma línea, la inmunogenicidad de infliximab puede reducirse por el uso concomitante de otros inmunosupresores como se ha visto en artritis reumatoide con el metotrexate, ¹³² pero también en uveítis con ciclosporina A. ¹³³ Sin embargo, y aunque parece claro que infliximab es el agente más inmunogénico dentro de este grupo, el resto de anti-TNF- α , pese a tener una estructura primaria humana, son también inmunogénicos, determinando la producción de anticuerpos anti-idiotipo. ¹³⁴ Los HACA inducidos por el uso de infliximab se han relacionado con la aparición de reacciones de hipersensibilidad infusionales, ¹³⁵ pero también, más recientemente, con una menor respuesta terapéutica probablemente en relación con la disminución de los niveles de fármaco libre útil, ¹³⁶ y con la necesidad de dosis crecientes de fármaco. ¹³⁷ Sin embargo, esta relevancia clínica no se ha evidenciado aún con los anticuerpos anti-idiotipo inducidos por el resto de anti-TNF- α .

Farmacocinética y absorción tisular:

Todos los fármacos anti-TNF- α son proteínas recombinantes demasiado grandes para poder ser filtradas por el glomérulo. Mientras la vida media de IgG no específicas,

cuando se administran por vía intravenosa, es de aproximadamente 30-40 días,¹³⁸ esto es mucho más variable para los anticuerpos específicos. De hecho, parece que en clínica los niveles basales de fármaco (en valle, medidos justo antes de la siguiente administración) serían más relevantes para la eficacia de lo que teóricamente lo sería la vida media del fármaco.^{131,136} Así las diferentes pautas en la frecuencia de administración de los distintos agentes anti-TNF- α (que aparecen reflejadas en la Tabla 1) serían el reflejo de los regímenes terapéuticos óptimos para alcanzar esos niveles basales. La gran fluctuación en las concentraciones séricas de infliximab reflejaría el hecho de que es administrado en relativamente grandes dosis intravenosas y contrastaría con las concentraciones relativamente constantes del resto de agentes, que son administrados en dosis subcutáneas menores.

Respecto a la absorción tisular, se ha comprobado, en estudios experimentales en modelos animales, como estos fármacos son absorbidos hasta el foco inflamatorio en artritis inducidas por colágeno.¹³⁹ En principio, esto sería lógico dada la vascularidad y permeabilidad vascular incrementadas asociadas a la articulación inflamada. Sin embargo, se ha comprobado cómo la absorción tisular de dichos fármacos no es similar, sin que se sepa si esta diferencia puede tener relevancia clínica.¹³⁹

Vía de administración

Como puede observarse en la tabla 1, infliximab es el único de estos agentes que se administra de forma intravenosa. Como ya publicamos anteriormente,¹⁴⁰ la aparición de un anticuerpo monoclonal humano de uso subcutáneo (en este caso adalimumab, de aparición previa en el mercado) supuso, por su mayor facilidad y rapidez de utilización,¹⁴¹ que muchos pacientes fueran tratados con este nuevo fármaco. Conviene recordar que la eficacia de ambos agentes no se ha demostrado significativamente distinta ya sea en enfermedades inmuno-mediadas en general,^{142, 143} como en el caso particular de las uveítis.¹⁴⁴ Sin embargo, adalimumab es hoy en día el fármaco anti-TNF más prescrito en el mundo, lo que supone unas ventas de unos 5 billones de dólares en el 2009, a pesar de su posterior aparición en el mercado, y esto sólo puede entenderse por las dos principales diferencias entre ambos: la inmunogenicidad y la vía de administración. El hecho de que el paciente pueda administrarse el fármaco en su casa, en el momento del día que más le conviene, y con un simple y rápido pinchazo, ha hecho que muchos médicos se hayan decantado por esta opción terapéutica, el adalimumab, en una gran

mayoría de casos lo que explicaría su enorme éxito comercial. Otros fármacos anti-TNF de reciente aparición como el golimumab y el certolizumab, también anticuerpos monoclonales humanos, comparten estas ventajas en su administración con el adalimumab.

	Infliximab	Etanercept	Adalimumab	Certolizumab	Golimumab
Estructura	Anticuerpo Monoclonal	Proteína de fusión (p75TNFR/Fc)	Anticuerpo Monoclonal	Anticuerpo Monoclonal	Anticuerpo Monoclonal
Dosis de carga requerida	Sí	No	No	Sí	No
Administración: 1) Vía 2) Frecuencia	Intravenosa 8 semanas	Subcutánea Semanal	Subcutánea 2 semanas	Subcutánea 2 semanas	Subcutánea Mensual
Vida media en humanos (días)	9.5	3	14	14	12
Humano vs Murino (Ver figura 1)	Murino (>5% parte animal)	Humano	Humano	Humanizado (<5% parte animal)	Humano

Tabla 2. Características principales de los cinco fármacos anti-TNF α disponibles comercialmente en la actualidad.

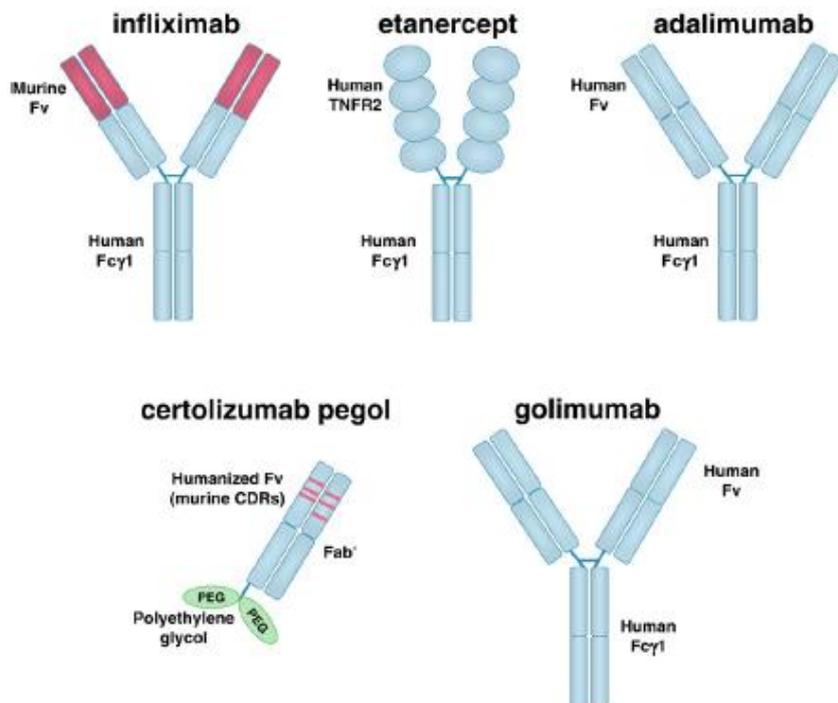


Figura 5. Diagramas simplificados de las moléculas de los cinco agentes anti-TNF. Obsérvese que infliximab es un anticuerpo quimérico (humano/ratón) IgG1, mientras que adalimumab y golimumab son anticuerpos monoclonales enteramente humanos (IgG1). Etanercept es una proteína de fusión humana. Certolizumab es un fragmento humanizado (parte murina menor del 5%) y pegilado (unido a polietileno-glicol) de la porción variable de un anticuerpo monoclonal humano. (tomado de Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther.* 2008 Feb;117(2):244-79.)

C.2.2) Uso de anti-TNF en otras patologías inmunomediadas.

En los últimos años del siglo XX, pero especialmente en este siglo, los fármacos anti-TNF se han ido incorporando al arsenal terapéutico de cada vez más enfermedades inmuno-mediadas, reflejando lo capital de esta citoquina en el proceso inflamatorio y demostrando además, en general, un excelente balance eficacia/seguridad, lo que ha universalizado su uso y ha ido progresivamente ampliando sus indicaciones. Son muchas las enfermedades en las que estos fármacos se han empleado con éxito. En este apartado analizaremos primero aquellas en las que la terapia anti-TNF tenía indicación

aprobada por los organismos pertinentes, y posteriormente también mencionaremos otras en las que la terapia anti-TNF se ha empleado fuera de indicación.

Artritis reumatoide:

La artritis reumatoide (AR) es la artropatía inflamatoria inmuno-mediada más prevalente en el mundo con aproximadamente un 0.8% del total de la población mundial afectada.¹⁴⁵ En principio, los fármacos anti-TNF se han utilizado cuando los fármacos antireumáticos modificadores de enfermedad convencionales como el metotrexate no son capaces de controlar la sinovitis.¹⁴⁶ En este caso, y cada vez con mayor frecuencia, se han introducido los anti-TNF, bien sustituyendo al fármaco anterior o bien asociándose a él. Al consultar diversos ensayos clínicos y meta-análisis de los estudios disponibles sobre la eficacia de los anti-TNF en AR, se evidencia que una gran parte de los pacientes responden favorablemente a este tratamiento, ya sea en cuanto a progresión radiográfica, respuesta clínica y función física¹⁴⁷⁻¹⁵⁰ Pero además, en aquellos pacientes en los que la utilización de un determinado fármaco anti-TNF falla (ya sea por ineficacia, pérdida de eficacia y/o intolerancia), la utilización de un nuevo anti-TNF puede ser tremendamente beneficiosa.¹⁴⁶

Es importante destacar que se han identificado diversos biomarcadores de respuesta al TNF en la AR, que se ha demostrado que explicarían el menor éxito de este tratamiento en algunos individuos.¹⁴⁷ Algunos de estos biomarcadores son marcadores genéticos (así como la peor respuesta a infliximab en aquellos pacientes con genotipo rs1800629 del factor de necrosis tumoral), marcadores inmunológicos (así como la mejor respuesta en pacientes con autoanticuerpos, anti-péptido citrulinado y factor reumatoide, negativos), u otros relacionados con el estilo de vida del individuo (así como la peor respuesta a infliximab en los pacientes fumadores). Estos hallazgos tienen enorme importancia por sus implicaciones sanitarias (para mejorar la calidad de vida de los pacientes) y económicas (para intentar reducir los costes de una terapia cara como es el tratamiento anti-TNF, y aún pueden ser todavía más importantes a medida que avanza el conocimiento que se tiene de los mismos.

Enfermedad inflamatoria intestinal (EII)

La enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU) son enfermedades inflamatorias crónicas del tracto gastrointestinal de etiología desconocida. La prevalencia de la EC es

de entre 130 y 200 afectados por cada 100.000 habitantes, mientras que la CU es algo más prevalente, entre 210 y 240 afectados por cada 100.000 habitantes.^{151, 152} Se estima que entre un 20 y un 40% de estos pacientes se convierten en dependientes de corticoides, a pesar del uso de otros inmunosupresores para reducir su dosis y mantener la enfermedad controlada, o resistentes al efecto de los mismos.¹⁵³ Por ello, un buen porcentaje de este grupo recibe tratamiento con fármacos anti-TNF. Dado que la cirugía es, en principio, curativa en la CU, son muchos más los pacientes con EC (y por ende los estudios) en los que se ha empleado este tratamiento.¹⁵⁴

Los estudios sistemáticos y meta-análisis sobre el uso de fármacos anti-TNF en (EII) arrojan datos elocuentes sobre el éxito de esta terapia. Así han demostrado eficacia en la inducción de remisión y en la prevención de recaídas en EC luminal, así como en la inducción de remisión en UC moderada-severa.¹⁵⁴ Existe más controversia acerca de la capacidad de estos agentes para promover la curación de fístulas asociadas a la EC así como sobre la cuestión de si esta terapia es eficaz en prevenir recurrencias de la UC controlada. Pero en definitiva, es posible afirmar, basados en la evidencia científica disponible, que los agentes anti-TNF son eficaces en el tratamiento de EC y UC lumbinales que no han respondido a terapias de primera elección y/o son dependientes de corticoides.¹⁵⁴

Espondilitis anquilopoyética

La espondilitis anquilopoyética (EA) es una artropatía inflamatoria crónica que afecta al esqueleto axial y periférico, cuya prevalencia se estima en torno a un 0.2-1.4% de la población.¹⁵⁵ El tratamiento clásico de esta enfermedad ha incluido en una primera fase los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) junto al ejercicio regular y, en aquellos casos refractarios el uso de otros agentes, especialmente el metotrexato y la sulfasalazina. Sin embargo, estos últimos no han demostrado mejoría de la enfermedad axial en AS. En este contexto, el de los pacientes con enfermedad refractaria, así como aquellos con patología no esquelética asociada refractaria (como es el caso de la uveítis refractaria asociada a EA), los fármacos anti-TNF han revolucionado el enfoque de estos pacientes.¹⁵⁶

La mejoría inducida por los agentes anti-TNF en pacientes con EA se ha plasmado en términos de actividad de la enfermedad (medida con índices tipo Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index” (BASDAI) y otros),^{157,158} pero también en

progresión radiográfica de la enfermedad,¹⁵⁹ calidad de vida,¹⁶⁰ inhibición de la osteoporosis,¹⁶¹ y en control de patología extra-articular como la uveítis,¹⁶² o la colitis.¹⁶³

Psoriasis, artritis psoriásica.

La psoriasis (Ps) es una enfermedad inflamatoria sistémica con afectación primaria de la piel (dermatosis eritemato-escamosa) con una prevalencia de entre un 0.5-3% de la población blanca.¹⁶⁴ El manejo clásico de esta enfermedad se ha basado en el uso de anti-inflamatorios tópicos y psoralenos asociados a rayos UVA, así como al uso de corticoides y otros inmunosupresores en casos clínicamente relevante. Por su parte, la artritis psoriásica (Aps) tiene una prevalencia en torno al 7% de los pacientes con psoriasis.¹⁶⁵ Estos pacientes, además del pertinente tratamiento de sus manifestaciones cutáneas (si las hubiere) se han manejado clásicamente con AINEs, corticoides sistémicos y/o loco/regionales (en infiltración), así como otros inmunosupresores en casos refractarios o dependientes del uso de corticoides. En ambos casos, la introducción de terapias anti-TNF han demostrado la eficacia más grande hasta la fecha en el manejo de algunos aspectos clínicos tanto del Ps como de la Aps.¹⁶⁶

Los tres principales agentes anti-TNF (adalimumab, infliximab, etanercept) han demostrado clara eficacia en el control de la actividad clínica de la enfermedad (medida con índices tipo PASI⁷⁵),¹⁶⁷⁻¹⁶⁹ pero también en otros aspectos nada desdeñables como la calidad de vida de estos pacientes.^{170, 171}

Por lo que respecta a la Aps, también se ha observado un claro beneficio del tratamiento con fármacos anti-TNF en cuanto a disminución de la actividad de la enfermedad (medida con índices tipo ACR20),¹⁷² así como en ralentización de la progresión radiológica.¹⁷³

Artritis idiopática juvenil (AIJ)

La AIJ es la enfermedad reumática más frecuente en la infancia, así como una importante causa de minusvalía.¹⁷⁴ El manejo clásico de estos pacientes ha incluido el uso de AINEs, así como corticoides y otros inmunosupresores (especialmente metotrexato) en los casos más severos y/o refractarios al tratamiento. En los últimos años, los agentes anti-TNF se han mostrado como una opción eficaz en diversos subtipos de la enfermedad que no respondían adecuadamente al tratamiento clásico,¹⁷⁵ y

poco a poco se han ido convirtiendo en una clara opción terapéutica, de primera elección incluso, en algunos casos, especialmente los graves y precoces.¹⁷⁶

Los agentes anti-TNF han logrado excelentes resultados en el control clínico de la enfermedad (medidos con los criterios pediátricos de la asociación americana de reumatología (“ACR pedi 30 response”) para los tres principales agentes anti-TNF (etanercept, infliximab y adalimumab).¹⁷⁶⁻¹⁷⁸ Curiosamente, estos resultados parecen sensiblemente superiores en los casos en los que el agente anti-TNF se asocia al inmunosupresor tradicional.^{178, 179}

Otros usos fuera de indicación

Los agentes anti-TNF también se han empleado con éxito en otras enfermedades inmunomediadas en las que su uso es “off label” es decir, en las que las autoridades sanitarias pertinentes no han aprobado el tratamiento de estos enfermos con anti-TNF en general, pero en los que el uso particular de dichos agentes en casos refractarios a la terapia convencional sí ha demostrado avances significativos.

Este es el caso por ejemplo de las uveítis, pero también de otras muchas entidades entre las que describiremos aquí de forma sucinta algunas como la sarcoidosis o las vasculitis sistémicas.

En el caso de la sarcoidosis persistente crónica, enfermedad que clásicamente se ha manejado con corticoides sistémicos (unidos a otros agentes en casos refractarios como el metotrexato o más raramente a los antimaláricos),¹⁸⁰ un agente anti-TNF, infliximab, ha demostrado, en ensayos clínicos randomizados, una significativa mejoría clínica tras 24 semanas de tratamiento ya sea en la afectación pulmonar (restricción ventilatoria) como en otras manifestaciones extrapulmonares de la enfermedad.¹⁸¹ Estos resultados se acompañaron además de una clara mejoría en los marcadores sistémicos de enfermedad inflamatoria.¹⁸² Resulta interesante cómo determinados fenotipos de sarcoidosis pulmonar (así aquellos con depleción de linfocitos T CD4+) se caracterizan por presentar una mejor respuesta al tratamiento anti-TNF que otros.¹⁸³

Por lo que respecta a las vasculitis sistémicas, los agentes citotóxicos han sido la piedra angular en el tratamiento de muchos tipos de vasculitis sistémicas primarias.¹⁸⁴ Agentes como la ciclofosfamida han cambiado el curso históricamente malo, en general, de estos procesos. Sin embargo, los efectos asociados al uso de estos agentes, han suscitado un

tremendo interés por incorporar los agentes anti-TNF como arma terapéutica frente a las vasculitis. Analizando los resultados en función de las entidades encontramos:

1) Arteritis de células gigantes: Pese a lo prometedor de algunos resultados publicados en casos aislados series de casos, el único ensayo clínico randomizado en el que se evaluó el uso de un agente anti-TNF no evidenció superioridad en la eficacia frente a placebo al evaluar pacientes tratados durante 22 semanas.¹⁸⁵

2) Arteritis de Takayasu: La serie más larga publicada sobre el uso de agentes anti-TNF en esta enfermedad incluyó 25 pacientes (21 de ellos tratados con infliximab y 9 tratados inicialmente con etanercept, aunque 5 de estos 9 fueron posteriormente tratados también con infliximab) seguidos una media de 28 meses.¹⁸⁶ Infliximab consiguió una remisión completa en 12 pacientes y parcial en otros 6. Las cifras con etanercept fueron, sin embargo más pobres. Sin embargo, el escaso número de pacientes y la ausencia de grupo control y randomización, hacen que estos resultados, aunque prometedores, ofrezcan escasa evidencia científica.

3) Vasculitis asociadas a anticuerpos anti-citoplasma del neutrófilo (ANCA).

Disponemos de escasa evidencia en lo que se refiere al tratamiento de la poliangeítis microscópica (PAN microscópica) y el síndrome de Churg-Strauss. Si que existen muchos más trabajos publicados sobre el papel de los anti-TNF en la granulomatosis de Wegener (GW). El único ensayo clínico randomizado del que disponemos evaluó la eficacia de etanercept para mantener la remisión en 180 pacientes, sin evidenciarse superioridad frente a placebo (y curiosamente con una significativamente aumentada incidencia de tumores sólidos en el grupo de etanercept).¹⁸⁷ Infliximab sólo se ha evaluado en series de casos con resultados prometedores.¹⁸⁸

C.2.3) Seguridad en el tratamiento con agentes anti-TNF: Efectos secundarios y consideraciones.

Hasta ahora hemos desarrollado en este segundo capítulo todo lo referente a las características de los diversos agentes anti- factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y su eficacia en diversas patologías inmuno-mediadas diferentes a la uveítis. Ahora, pretendemos analizar, de forma sucinta, todos los aspectos referentes a la seguridad de dicho tratamiento.

Riesgos potenciales asociados al uso de agentes anti-TNF- α

- 1) Infecciones y neoplasias: Los efectos secundarios más importantes, a priori, asociados a la inhibición del TNF- α son las infecciones (especialmente reactivaciones de infecciones latentes por patógenos intracelulares) y el riesgo aumentado de neoplasias (probablemente relacionado con fallos en la regulación del balance de recambio celular que antes veíamos). Aunque la monografía de los agentes inhibidores del TNF- α incluye advertencias acerca de estos potenciales efectos secundarios, no proporciona estimaciones del riesgo de aparición de los mismos. Parece que el riesgo de infección severa está probablemente aumentado tras los primeros 6-12 meses de tratamiento.¹⁸⁹ Un metaanálisis de los ensayos clínicos randomizados con pacientes que comenzaban tratamiento con agentes anti- TNF- α demostró que dichos pacientes tienen riesgo aumentado de infección severa.¹⁹⁰ Este riesgo precoz de infección también se ha corroborado posteriormente en otros estudios.^{191, 192} Por lo que respecta a las neoplasias, tanto sólidas como hematopoyéticas, asociadas al uso de estos agentes, el riesgo potencial está mucho menos claro. Los metaanálisis de ensayos clínicos han revelado resultados controvertidos.^{190, 192} De esta forma, no se ha observado un riesgo aumentado de neoplasias en los registros de autoridades sanitarias, exceptuando un riesgo aumentado de linfomas y melanomas en alguno de esos registros.¹⁸⁹
- 2) Problemas cardiovasculares: El efecto del tratamiento con agentes anti-TNF- α sobre el corazón ha sido estudiado en profundidad. En principio, este tratamiento presenta algunos efectos positivos (como la protección frente a isquemia y miocarditis, así como frente a ascensos de presión arterial) pero también algunos potenciales efectos nocivos como la propensión al desarrollo de aterosclerosis, hipertrofia, y fallo cardiaco por disfunción miocárdica contráctil.¹⁹³ Además parece que los agentes anti-TNF- α favorecen no sólo la formación de la placa de ateroma sino también su ruptura y por lo tanto la aparición de eventos trombembólicos. Sin embargo, y a pesar del consenso generalizado entre expertos sobre la contraindicación de su uso en pacientes con insuficiencia

cardiaca clase III-IV, los estudios epidemiológicos no apoyan de una forma clara esta actitud terapéutica.¹⁹⁴

- 3) Enfermedad desmielinizante y otras neuropatías: El uso de agentes anti- TNF- α se ha asociado con la potencial aparición de neuropatías periféricas que incluirían neuropatías desmielinizantes agudas o crónicas y neuropatías vasculíticas, sin que el mecanismo patogénico esté muy claro.¹⁹⁵ La incidencia de estas complicaciones neurológicas parece escasa, ya que el número de casos publicados hasta la fecha es escaso (27 según una revisión del 2009).¹⁹⁵ La mayor parte de los casos de neuropatía desmielinizante asociada al uso de anti-TNF- α han sido síndromes de Guillain-Barré (más del 50% del total). El seguimiento a corto plazo de estos pacientes indica en principio buen pronóstico tras la retirada del tratamiento. Incluso algunos autores parece que abogan por detener el tratamiento sólo en algunos casos en los que aparece este tipo de complicación.¹⁹⁵
- 4) Alteraciones analíticas: Hepatotoxicidad y mielotoxicidad. Se ha definido como hepatotoxicidad asociada al uso de agentes anti-TNF- α a la elevación de las transaminasas cinco veces por encima de sus valores considerados normales asociada a ictericia, fallo hepático agudo o colestasis.¹⁹⁶ Las elevaciones menores de los niveles de transaminasas se han documentado en hasta un 18% del total de los pacientes que reciben tratamiento con estos agentes, y que en la inmensa mayoría de los casos no da lugar a hepatotoxicidad que requiera retirada del tratamiento.¹⁹⁶ Otros potenciales efectos de este tratamiento sobre el aparato digestivo incluyen la propensión a la formación de cálculos biliares. Además se han descrito algunos casos de hepatitis autoinmune grave que podría estar relacionada con el agente anti-TNF- α en cuestión.¹⁹⁷ Se han descrito diversas alteraciones hematológicas asociadas al uso de agentes anti- TNF- α , la mayor parte leucopenias y trombopenias leves, aunque excepcionalmente se han descrito casos más graves de pancitopenias y/o aplasias medulares.¹⁹⁸ La incidencia, a juzgar por la escasa literatura existente al respecto, parece ser muy baja y el mecanismo de acción, desconocido, aunque se han postulado diversas hipótesis como el bloqueo en la diferenciación de las células hematopoyéticas o la toxicidad directa sobre la médula ósea.¹⁹⁹

- 5) Reacciones de hipersensibilidad/Anticuerpos neutralizantes. Como ya se ha mencionado, el carácter quimérico de infliximab explica la mayor incidencia de reacciones de hipersensibilidad agudas que aparecen durante la infusión y hasta en las 2 horas posteriores, y que son relativamente frecuentes, apareciendo en 3-22% de los pacientes según las series y el tiempo de seguimiento.²⁰⁰ La mayor parte de estas reacciones son leves-moderadas pero, sin embargo, pueden conducir a una retirada del tratamiento. Diversas medidas como un tiempo largo de infusión, o la administración de agentes anti-histamínicos previos a la misma pueden reducir de forma significativa su incidencia.²⁰⁰ También se han descrito reacciones de hipersensibilidad asociadas al uso del resto de los agentes anti-TNF- α , la mayor parte de las cuales son retardadas, leves, autolimitadas y consistentes en erupciones cutáneas locales (de tipo eczematoso) en el lugar de inyección.²⁰¹ Por lo que se refiere a la aparición de anticuerpos neutralizantes, cada vez está más claro que todos los agentes anti-TNF- α inducen en mayor o menor medida su aparición, aunque de nuevo infliximab por su carácter quimérico lo hace en mayor medida.²⁰² La formación de estos anticuerpos puede acarrear efectos secundarios (como reacciones de hipersensibilidad), pero también disminuir su eficacia.²⁰² El avance en los métodos de detección de dichos anticuerpos ha facilitado que surjan cada vez más estudios evaluando su posible implicación en fenómenos de refractariedad o taquifilaxia asociados al uso de agentes anti-TNF- α .^{203,204}
- 6) Enfermedad autoinmune. La terapia con agentes anti-TNF- α puede asociarse con la inducción de autoinmunidad incluyendo la formación de anticuerpos anti-nucleares (ANA), anti-DNA de doble cadena o anticardiolipina entre otros.²⁰⁵ Aunque hay descritos casos de síndrome *lupus-like* asociado al uso de estos agentes, éste es poco frecuente.²⁰⁶ Los agentes anti-TNF- α , pero en especial etanercept, también se han asociado con la aparición de sarcoidosis *de novo* tanto pulmonar,²⁰⁷ como de otras localizaciones.²⁰⁸ Se desconoce el mecanismo de este “efecto paradójico” aunque viene a reivindicar el papel decisivo de TNF- α en la patogenia de esta enfermedad.²⁰⁹ Otros fenómenos de autoinmunidad, poco frecuentes, que se han asociado al uso de de agentes anti-TNF- α son por ejemplo vasculitis de predominio cutáneo (leucocitoclásticas),²¹⁰ o enfermedades intersticiales pulmonares.²¹¹

C.3) Uso de fármacos anti-TNF en uveítis.

C.3.1) Razones para su uso en uveítis.

TNF- α e inflamación ocular: efecto de los fármacos anti-TNF- α

Los datos disponibles sugieren que, en el ojo inflamado, al igual que en otras patologías inflamatorias crónicas, TNF α es liberado por macrófagos y linfocitos T infiltrantes activados así como por células residentes intraoculares.²¹² TNF- α intraocular: i) dirige el reclutamiento de leucocitos hacia el ojo en las fases iniciales de la enfermedad via inducción de incremento de adhesión leucocitaria al endotelio y de producción de quimioquinas ii) induce maduración de las células dendríticas, aumentando su capacidad para presentar antígeno a los linfocitos T iii) activa a macrófagos iv) activa la función efectora de los linfocitos T infiltrantes y v) incrementa la apoptosis de células residentes oculares y de células infiltrantes (Figura 3).^{212, 213}

El bloqueo de TNF- α mediante fármacos biológicos ejerce una acción antiinflamatoria potente, pero también potencialmente inmunomoduladora a largo plazo. Estos fármacos provocan:^{213, 214}

1. Bloqueo de las distintas fases de inflamación: disminución de IL-1, IL6, IL-8, PCR y otros reactantes de fase aguda, VEGF, quimioquinas, moléculas de adhesión y menor reclutamiento de células inflamatorias al foco (como después veremos en el capítulo 5).
2. Apoptosis, por activación de caspasa-8 mitocondrial, de células del sistema inmune y otras células tisulares
3. Lisis de macrófagos y linfocitos activados por dos mecanismos diferentes: fijación de complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC)
4. Incremento del número de Linfocitos T reguladores (CD25+ FoxP3+), capaces de regular negativamente de forma antígeno-específica la actividad de Linfocitos T efectores (que demostraremos en el capítulo 5).

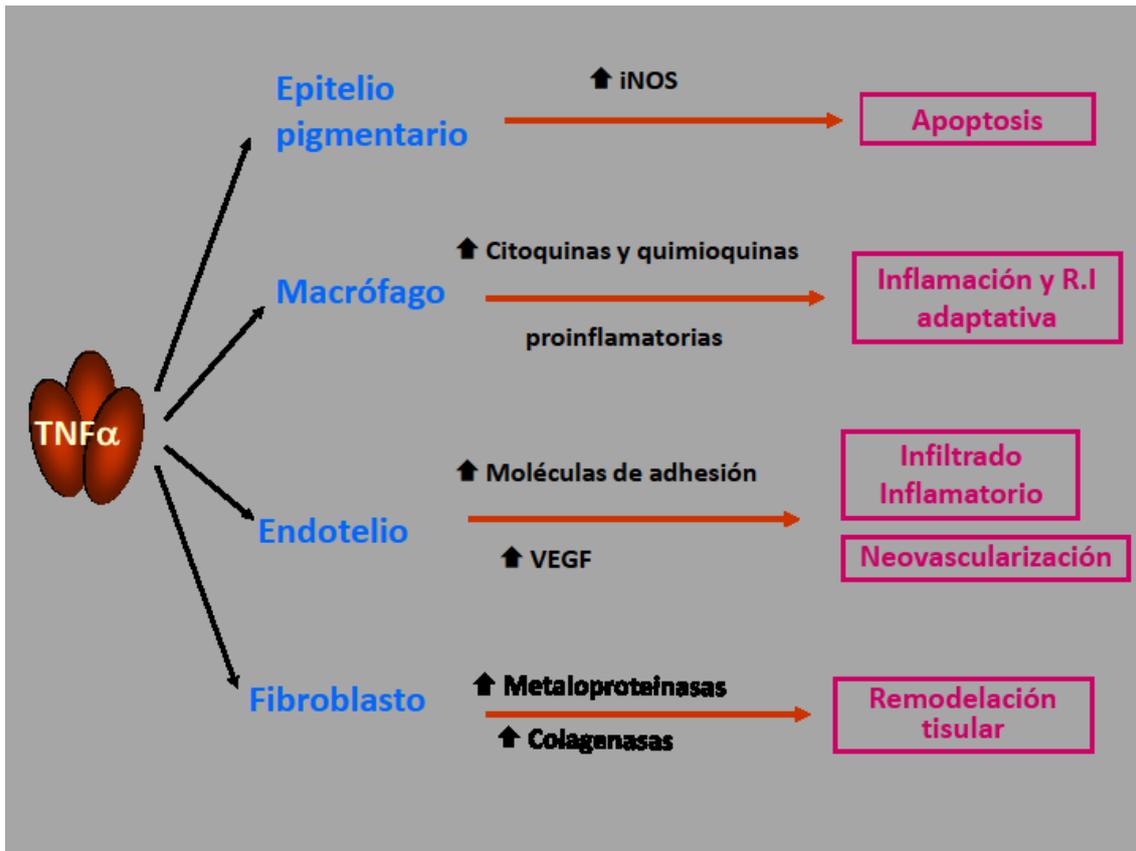


Figura 6: Esquema sobre el papel del TNF- α en la inflamación ocular.

Es motivo de debate si todas o solo algunas de estas acciones son compartidas por los dos grupos de anticuerpos anti-TNF disponibles (receptor soluble o anticuerpos monoclonales anti-TNF α). Es cierto que los mecanismos por los que ejercen su acción terapéutica podrían ser diferentes, puesto que Etanercept (receptor soluble) no es útil en Crohn ni en Uveitis (como podremos ver en la revisión sistemática de este mismo capítulo), mientras que los anticuerpos (infliximab y adalimumab especialmente por ser los más usados y documentados) son útiles en todas las indicaciones establecidas para los anti-TNFs. Realmente, al menos en parte, su mecanismo de acción es diferente pues etanercept se une a TNF- α y TNF- β (linfotóxina), mientras que los otros dos sólo se unen a TNF- α .²¹³ Estas diferencias de eficacia terapéutica son independientes de la capacidad de unión a TNF- α soluble y de membrana y de la capacidad para activar complemento. Alternativamente, las diferencias podrían relacionarse con diferente capacidad de penetración tisular, con el perfil farmacocinético o con otros factores no conocidos.²¹³

Todas estas funciones son a priori beneficiosas en el tratamiento de las uveítis no infecciosas. Sin embargo, puesto que TNF- α ejerce en condiciones fisiológicas una importante actividad homeostática, su utilización no está desprovista de potenciales efectos adversos (como ya hemos visto anteriormente). Es evidente la razón del incremento de infecciones, pero no así las causas de otro efecto adverso frecuente, la aparición de fenómenos autoinmunes, como la producción de anticuerpos, aunque raramente acompañados de clínica.²⁰² Quizás una alteración de la apoptosis pudiera ser la causa subyacente. Mas difíciles de explicar son los efectos adversos observados en pacientes con esclerosis múltiple, enfermedad en la que en modelos experimentales hay una presencia abundante de TNF- α local o aún mas intrigante el por qué dentro de una misma patología unos individuos responden y otros no al tratamiento con anti-TNFs. En conjunto, estos datos ilustran la complejidad de las vías de señalización de las respuestas inmunes y la necesidad de profundizar más en su conocimiento.

¿Está justificado usar fármacos anti-TNF fuera de indicación en uveítis?

El control completo de la inflamación es el objetivo prioritario del tratamiento de este grupo de uveítis. La utilización precoz de dosis adecuadas de inmunosupresores clásicos es de elección, permitiendo inicialmente controlar la inflamación en la mayoría de los pacientes. ¿Por qué entonces atravesar la tenue línea que separa la terapia establecida de la experimental?

A) Razones clínicas:

- Los fármacos inmunosupresores clásicos tienen una elevada toxicidad a medio y largo plazo, tanto sobre el sistema inmune como sobre otros órganos.³⁰ Los anti-TNF son específicos de moléculas comunes que intervienen en la mayoría de las vías de la respuesta inmune, sin comprometer a otros órganos.
- Necesidad de actuar en aquellos pacientes que no responden, que lo hacen de forma incompleta o en los que recidiva la enfermedad a pesar de tratamiento.
- Demostrado efecto sistémico antiinflamatorio rápido y potente de los anti-TNFs.¹³¹

- Experiencia favorable con anti-TNFs en algunas, no en todas, de las patologías con las que se asocian estas uveitis (AR, Espondiloartropatías, Psoriasis, Crohn).^{145,151,155, 164}
- Experiencia clínica favorable en series de casos de uveitis asociadas a AR, AIJ, Espondiloartropatías, Behçet – no randomizados y con un número insuficiente de casos –, así como en casos aislados de muchas otras uveitis idiopáticas refractarias.

B) Razones fisiopatológicas: hechos experimentales

- TNF- α está aumentado en humor acuoso de pacientes con uveitis activa no infecciosa.⁶⁸
- TNF- α sérico y sTNF RII están aumentados en Enfermedad de Behçet.²¹⁵
- Niveles séricos de sTNF RI están aumentados en pacientes con uveitis posteriores e intermedias.²¹⁶
- Líneas celulares de linfocitos T obtenidas a partir de humor acuoso de pacientes con Behçet, Sarcoidosis y VKH producen espontáneamente altas cantidades de TNF- α .²¹⁷
- En los modelos de uveitis experimental, TNF- α es imprescindible en la fase de inducción de la uveitis posterior autoinmune (EAU) y es el mediador fundamental del reclutamiento de células inflamatorias hacia cámara anterior en el modelo de uveitis anterior inducido por endotoxinas bacterianas.^{13,218} En EAU, potencia la respuesta de linfocitos T efectores y la activación de los macrófagos tisulares, ambos responsables del daño tisular antígeno-específico (autoinmune) y antígeno-inespecífico (by-stander). Ambas son suprimidas por fármacos anti-TNFs.²¹⁸

Conclusiones

Con los datos disponibles, parece pues pertinente la utilización fuera de indicación de anti-TNFs en uveitis no infecciosas, aunque no de forma generalizada en todas ellas. Es necesario seleccionar los casos basándose en la realización de estudios multicéntricos randomizados que engloben a suficiente número de pacientes con uveitis específicas.

Aunque con el uso de estas terapias antiinflamatorias de acción más selectiva no podamos conseguir la curación – definida como la restauración de la tolerancia a autoantígenos – y pueda requerirse tratamiento de por vida, un adecuado control de la inflamación que caracteriza a la autoinmunidad y que favorece su autopropagación, es el punto de partida necesario para iniciar terapias complementarias o posteriores que detengan la enfermedad inmuno-mediada.

C.3.2) Valoraciones previas del uso de anti-TNF en uveítis:

C.3.2.1) Cribaje de otras causas de uveítis: Infecciosas y neoplásicas.

En primer lugar, y dado que el tratamiento con agentes anti- TNF- α sólo es beneficioso en el manejo de uveítis inmuno-mediadas, y no en infecciosas, neoplásicas y/o traumáticas en las que potencialmente puede causar efectos perjudiciales para el paciente, lo primero antes de decidir este tratamiento es haber descartado de una forma razonable y hasta donde nos permiten nuestros medios, esas otras causas de uveítis.

Uveítis infecciosas

La mayor parte de las uveítis anteriores e intermedias (más del 90%) son inmuno-mediadas.⁵ Sin embargo, en el caso de las posteriores y panuveítis, este porcentaje es menor, debido a que abundan las uveítis secundarias a procesos infecciosos. Es en este contexto en el que debemos entender que un buen cribaje de causas infecciosas es mucho más importante, si cabe, en el caso de las uveítis que afectan al segmento posterior. En este cribaje, resulta fundamental una buena anamnesis, con valoración epidemiológica (contacto con enfermos o animales, viajes etc.), que puede orientar el diagnóstico. Los estudios a realizar tienen siempre mayor rendimiento en muestras oculares (humor acuoso o vítreo, tejido intraocular) que en suero, correspondiendo al oftalmólogo decidir cómo y cuándo realizar dichas pruebas más agresivas.

Dada la elevada lista de posibles agentes infecciosos causantes de uveítis, debemos conocer aquellos que son especialmente frecuentes en nuestro medio, sus características clínicas y las pruebas necesarias para descartarlos. No debe olvidarse, no obstante, el papel de otros gérmenes conocidos causantes de uveítis como *Bartonella Henselae*, *Borrelia Burdogferii*, *Toxocara* etc. Los principales agentes en nuestro medio son:⁸

Herpesvirus (HS I y II, CMV, Varicela-zoster): Indicado cribaje ante cualquier uveítis anterior si hipertensiva, resistente a tratamiento convencional, alteración de la sensibilidad corneal o con alteraciones iridianas. Sospecha en cuadros posteriores con disminución brusca de AV especialmente si asociados a focos de isquemia/necrosis retiniana.

- Serología: Aunque su positividad en suero es de escaso valor, puede ser útil (aunque la IgM específica elevada sugeriría un alto índice de sospecha). Sirve para descartar cuando es negativa.

- *Polymerase Chain Reaction* (PCR): Es posible realizar simultáneamente Multiplex PCR para varios virus herpes (Herpes simples 1 y 2, Varicela Zoster) al mismo tiempo. Los resultados positivos son confirmatorios (alta especificidad), aunque los negativos no descartarían (relativamente baja sensibilidad) incluso en muestras oculares.

- *Goldmann-Witmer* (Ac (acuoso)/Ac (suero) x [IgG total suero]/ [IgG total acuoso]): Coeficiente que relaciona la producción de anticuerpos específicos (frente a un determinado germen) a nivel ocular con la sistémica. En caso de ser superior a un valor preestablecido (habitualmente 3) puede ser considerado diagnóstico (indirecto). Exige toma de muestras ocular y sérica simultánea. Su realización conjunta con PCR supone la aproximación diagnóstica con mayor sensibilidad y especificidad en uveítis herpéticas y toxoplásmicas.

Toxoplasma: Indicado cribaje ante cualquier uveítis posterior o panuveítis con lesiones coriorretinianas. Sospecharlo en uveítis intermedias con lesiones muy periféricas o en papilitis.

- Serología: Sólo es importante para descartar en caso de ser negativa.

- Goldmann-Wittmer (ver herpes): No se altera con la patocronía de la coriorretinitis toxoplásmica (al contrario que la PCR en fases iniciales). Parece que tiene mayor sensibilidad que la PCR en uveítis toxoplásmicas.

- PCR (ver herpes): A partir de fluidos oculares (humor acuoso y/o vítreo). Alta especificidad pero escasa sensibilidad (disminuída además en los 6 primeros días del proceso por la ausencia de bradizoítos toxoplásmicos detectables).

Sífilis: Al igual que en la tuberculosis (TB) se recomienda cribaje en cualquier uveítis intermedia, posterior, panuveítis. También en anteriores recidivantes/resistentes a tratamiento (especialmente si están asociadas a hipertensión ocular). Siempre debe considerarse neurosífilis y necesita ingreso, realización de punción lumbar (con estudio VDRL en LCR) y tratamiento intravenoso si se confirma.

- Test no treponémicos (VDRL, RPR): Valoran la existencia de Ac frente a antígenos lipídicos de la espiroqueta. Son no-específicos, los usados en cribaje.

- Test treponémicos (FTA-abs, MHA-TP): Se basan en la detección de la espiroqueta. Son específicos. Se positivizan entre 2 y tres semanas tras inicio de fase primaria. En un número grande de pacientes permanecen positivos toda la vida independientemente del tratamiento (No sirven para monitorizar la respuesta).

Sífilis 1^{aria}: FTA abs +.

Sífilis 2^{aria}: Treponémicos y no treponémicos +.

Sífilis 3^{aria}: Treponémicos +, no-treponémicos, variable.

Hay que recordar que la sífilis tratada en fases iniciales, la inmunidad resultante es parcial, pudiendo volver a contraer a enfermedad.

Uveítis neoplásicas

Linfoma intraocular

En los pacientes que presentan una vitritis persistente (especialmente si presentan infiltrados subretinianos amarillos o blancoamarillentos, a veces coalescentes), debe sospecharse un linfoma a pesar del tratamiento. Esta sospecha se reforzaría si además se aprecian signos y/o síntomas neurológicos acompañantes. En el 98% de los casos estos linfomas primarios del SNC son linfomas no-Hodgkin de células B. En caso de sospecha fundada se recomienda toma de muestra intraocular (humor vítreo preferiblemente) para realizar:

- Citometría de flujo (clon de células neoplásicas).

- Anatomía patológica (linfocitos pleomórficos con nucleolo prominente). Escasa sensibilidad aunque gran especificidad.

- Diagnóstico indirecto: cociente Interleuquina 10/ Interleuquina 6 mayor de 1.

Paraneoplásico

Recomendado en pacientes con neoplasia conocida y uveítis (especialmente posteriores y panuveítis) acompañante. También podría estar indicado en casos de alta sospecha de neoplasia no diagnosticada o cuadros crónicos no infecciosos y resistentes al tratamiento inmunosupresor. Estos cuadros, aunque no exclusivos de síndromes paraneoplásicos, se conocen actualmente como Retinopatías Autoinmunes y las principales pruebas de laboratorio disponibles ante su sospecha serían:

- 1) Determinación de anticuerpos antirretinianos: Anti-recoverina, anti-enolasa, anti-arrestina (Antígeno S), IRBP etc. Los primeros en relacionarse con cuadros paraneoplásicos. .
- 2) Determinación de anticuerpos antineuronales: Anti-Hu, Yo, Ma2, Ri, Tr, antififisina, CV2/CRMP5 y anticuerpos contra canales de voltaje de calcio. Su aparición también podría orientar el diagnóstico etiológico hacia un posible cuadro paraneoplásico.

C.3.2.2) Cribaje de tuberculosis: Uveítis y tuberculosis.

Diagnóstico de uveítis tuberculosa.²¹⁹

Los criterios vigentes en la actualidad para el diagnóstico de uveítis tuberculosas establecen una serie de condiciones a considerar para su diagnóstico:

- 1) Signos clínicos (exploración): Cualquier uveítis puede ser tuberculosa.
- 2) Pruebas diagnósticas oculares
 - Presencia de *M. Tuberculosis* (BK) en tejidos/fluidos intraoculares (determinada mediante observación al microscopio o cultivo)
 - Determinación en tejidos/fluidos intraoculares del genoma de BK mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- 3) Pruebas diagnósticas sistémicas
 - Prueba de la tuberculina (intradermorreaccion de Mantoux) positiva.
 - Prueba de *Interferon Gamma Release Assay* (IGRA) positiva (Test in vitro sobre sangre del paciente que valora la producción de IFN- γ por Linfocitos T de memoria TB específicos. También informa de infección previa pero de forma más específica y

posiblemente más útil en inmunosuprimidos. Existen 2 tipos de IGRAS disponibles comercialmente: T-SPOT.TB y QuantiFERON-TB.

- Signos radiológicos de tuberculosis pulmonar pasada
 - TB extrapulmonar confirmada (mediante observación al microscopio o cultivo).
- 4) Exclusión de otras causas de uveítis.
 - 5) Test terapéutico.
- Respuesta positiva a tratamiento antituberculoso (ATT) en 4-6 semanas.

Se considera uveítis tuberculosa confirmada a toda aquella que cumpliera alguno de los preceptos establecidos en los puntos 1 y 2.

Se considera uveítis tuberculosa presunta a toda aquella que cumpliera alguno de los preceptos establecidos en los puntos 1, 3 y 4. Lo cual daría justificación al test terapéutico (incluido en el punto 5).

Conviene resaltar que el espectro de manifestaciones clínicas de la uveítis tuberculosa es muy amplio, con lo que, desde un punto de vista práctico, es importante tener claro que cualquier uveítis, y especialmente si afecta al segmento posterior del ojo, puede ser tuberculosa.²¹⁹

Por ello, antes de considerar una uveítis (y especialmente si afecta al segmento posterior) como inmuno-mediada, y por supuesto, antes de tratar al paciente que la padece con fármacos anti-TNF α , conviene realizar el cribaje anteriormente descrito.

Nuestro grupo aplicó este cribaje a pacientes con uveítis que afectaban al segmento posterior, ya fuesen de nueva aparición o antiguas con mala respuesta al tratamiento, incorporando las nuevas técnicas de detección de producción de interferón-gamma linfocitario (las IGRAS ya varias veces mencionadas en este capítulo).²²⁰ En este estudio reflejamos cómo la uveítis tuberculosa es una entidad vigente y que conviene sospechar especialmente en pacientes que cumplan cualquiera de estos dos criterios:

- 1) Uveítis con afectación (cualquiera que sea) del segmento posterior de reciente aparición.
- 2) Uveítis antigua con afectación del segmento posterior refractaria al tratamiento convencional con corticoides y/u otros inmunosupresores.

En estos casos, nuestro estudio demuestra cómo la aplicación de un cribaje sistemático incorporando las nuevas herramientas diagnósticas de tuberculosis, permite detectar casos con uveítis tuberculosas erróneamente diagnosticadas como inmuno-mediadas que se pueden beneficiar enormemente de un tratamiento correcto.²²⁰ La aplicación de este cribaje sistemático es pues decisivo antes de iniciar tratamiento con fármacos anti-TNF α en pacientes de estas características (que en realidad constituyen un porcentaje alto del total de los que reciben este tipo de tratamientos).

Reactivación de tuberculosis tras tratamiento con fármacos anti-TNF α

Un cribaje previo de infección latente por TB resulta esencial antes del tratamiento con cualquier fármaco anti-TNF α por varias razones. Como recordatorio, conviene recalcar:

- 1) Cualquier paciente que vaya a recibir tratamiento con fármacos inmunosupresores presenta riesgo de padecer enfermedad tuberculosa (ya sea por primoinfección o por reactivación de tuberculosis latente)
- 2) La inmunosupresión inducida por los fármacos anti-TNF α es especialmente importante en la defensa frente a patógenos intracelulares como el *M. Tuberculosis*.

Este cribaje, como ya hemos comentado, se efectuaría mediante una anamnesis exhaustiva, la combinación de pruebas de diagnóstico de infección tuberculosa (IGRAS y Mantoux con o sin booster en función de alta sospecha de falso negativo) que aumentaría la sensibilidad del cribaje,²²¹ y la realización de estudio de imagen pulmonar (habitualmente placa de tórax, aunque en casos dudosos, se puede requerir de estudio con tomografía axial computerizada de alta resolución). A pesar de lo exhaustivo del cribaje, deben tenerse en cuenta varias cuestiones:

- 1) El paciente puede estar tomando inmunosupresores en el momento del cribaje, lo que puede acrecentar la tasa de falsos negativos de tuberculosis latente.²²² Por eso la recomendación de incluir prueba IGRAS (más sensible en estos casos),²²¹ y de combinarla con el Mantoux.
- 2) Conviene recordar que el paciente puede infectarse tras este primer cribaje, y que el riesgo de desarrollar enfermedad tuberculosa es alto. Por ello, debe

considerarse la repetición periódica de, al menos, los test de infección tuberculosa.

Aún siguiendo dichas recomendaciones es posible, ya sea porque el cribaje inicial no es infalible y pueden escapárseos casos de uveítis tuberculosas mal etiquetadas de inmuno-mediadas, o bien porque el paciente se infecte tras el cribaje y padezca una tuberculosis de novo (con alta tasa de tuberculosis extrapulmonares resistentes al tratamiento), que el paciente desarrolle una tuberculosis.

En esta línea, nuestro grupo publicó el caso de una paciente que, con un diagnóstico de coroiditis serpinginosa idiopática, y a pesar de un exhaustivo cribaje previo al tratamiento con infliximab, así como durante el mismo, desarrolló una tuberculosis gastrointestinal fatal.²²³

C.3.2.3) Otras consideraciones previas al uso de anti-TNF en uveítis.

Además del cribaje de tuberculosis, conviene tener en cuenta otras cuestiones relacionadas con el paciente al que vamos a tratar con agentes anti-TNF α , que resultan tremendamente importantes antes de iniciar el tratamiento:

- 1) Cribaje de hepatitis B, C y de infección por el VIH: Los fármacos anti-TNF pueden influir en la reactivación de la infección por el virus de la hepatitis B y C en portadores inactivos y asintomáticos (por supuesto, están contraindicados en pacientes con hepatitis activa). Por ello es importante conocer la seropositividad al virus de la hepatitis B, la carga viral, y los niveles séricos de aminotransferasas previo al tratamiento con agentes anti-TNF α .²²⁴ El tratamiento antiviral concomitante estaría indicado en aquellos individuos portadores que fuesen a recibir tratamiento con fármacos anti-TNF α incluso en ausencia de alteraciones de la función hepática o cargas virales indetectables. Por lo que se refiere a pacientes infectados por el VIH, y pese a que en principio esta infección resulta una contraindicación para el tratamiento con agentes anti-TNF α , existen cada vez más casos reportados en la literatura de pacientes con patología inmuno-mediada y VIH tratados exitosamente con estos agentes.²²⁵ En este sentido, no parece haber un consenso claro sobre las pautas de actuación.

- 2) Estudio cardiológico: Los fármacos anti-TNF α acarrearán una serie de efectos cardiovasculares positivos y negativos. En esta línea, conviene resaltar que, pese a que durante un tiempo se desaconsejó el uso de estos fármacos en cualquier tipo de paciente con insuficiencia cardíaca congestiva, las recomendaciones serían:²²⁶
- a) Los pacientes con historia de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) e indicación para el uso de terapia anti-TNF no necesitarían cribaje cardíaco previo a su utilización.
 - b) Los pacientes con ICC compensada (clases I y II de la New York Heart Association-NYHA) e indicación para uso de estos fármacos, deben ser evaluados cardiológicamente antes de iniciar el tratamiento y ser seguidos con regularidad para descartar empeoramiento de su patología cardíaca.
 - c) Los pacientes con ICC clase III y IV de la NYHA no deben recibir tratamiento con fármacos anti-TNF.
- 3) Embarazo: También en este aspecto ha existido y existe cierta controversia. En el caso de infliximab, el anti-TNF más estudiado en este aspecto, y tras más de 300 casos de embarazadas recibiendo este tratamiento, se ha establecido que el riesgo fetal es muy bajo durante la concepción y los primeros dos trimestres del embarazo.²²⁷ Sin embargo, no se dispone de datos a largo plazo en este contexto de paciente. Considerando casos muy aislados de respuesta patológica a vacunas (especialmente en el caso de vacunas con BCG),^{228, 229} se aconseja discontinuar el tratamiento en el inicio del tercer trimestre de embarazo para minimizar la exposición fetal tardía. Además, en el periodo neonatal, se recomendaría posponer vacunación con virus vivos hasta que los niveles serológicos de infliximab sean indetectables.²²⁷
- 4) Enfermedad desmielinizante/neuritis óptica: El tratamiento con fármacos anti-TNF se ha asociado con la potencial aparición de procesos desmielinizantes.²³⁰ Por ello, debemos evitar este tratamiento en pacientes previamente diagnosticados con este tipo de patologías. Sobre el hecho de realizar un cribaje de patología desmielinizante en los pacientes que van a recibir este tipo de

tratamientos, parece que la realización de una resonancia magnética cerebral en todos ellos no estaría justificada.²³¹ Sin embargo, este cribaje podría tener interés en dos casos particulares (especialmente en pacientes jóvenes) :

- a) Pacientes con uveítis asociada a síntomas neurológicos no definidos
- b) Pacientes con uveítis intermedia/pars planitis.

- 5) Reacciones de hipersensibilidad en área de inyección/infusionales: En el caso de los fármacos anti-TNF de uso subcutáneo, son comunes las reacciones locales en el área de inyección (erupciones cutáneas de tipo ecematoso), especialmente en el primer mes de tratamiento, y suelen decrecer en los meses sucesivos.²³¹ Por ello es importante informar al paciente de esta cuestión. Por lo que se refiere al infliximab, el único quimérico y de uso intravenoso, son relativamente frecuentes las reacciones leves infusionales. Diversas medidas como un tiempo largo de infusión, o la administración de agentes anti-histamínicos previos a la misma pueden reducir de forma significativa su incidencia.²⁰⁰
- 6) Control basal general y controles periódicos: Los eventos hematológicos, hepatotóxicos y nefrotóxicos son relativamente infrecuentes en los pacientes que siguen este tipo de tratamientos. Aunque no hay un consenso establecido sobre el control serológico regular,²³¹ sí es recomendado con cierta asiduidad al inicio del tratamiento y más espaciado a medida que observamos una buena tolerancia.
- 7) Información general sobre el fármaco y sobre su perfil de seguridad y posibles efectos secundarios: De vital importancia, para que el paciente sea consciente de la naturaleza del tratamiento y de la importancia de un cierto control personal de su tolerancia al tratamiento, así como de intentar llevar un estilo de vida saludable y acorde con un tratamiento de estas características.

C.3.3) Resultados clínicos documentados sobre el uso de fármacos anti-TNF en uveítis: Actualización basada en la evidencia.

Para poder analizar lo publicado hasta ahora sobre el uso de estos agentes en el tratamiento de los pacientes con uveítis realizamos una revisión sistemática de la literatura científica. Son mucho los estudios publicados al respecto, aunque de escaso valor estadístico por tratarse en su mayor parte de series de casos (la mayor parte heterogéneos, retrospectivos, y con escaso número de pacientes). Sin embargo son más escasos los estudios/ensayos prospectivos, randomizados, controlados, que puedan poner de relieve con mayor solidez y certeza, la verdadera eficacia y seguridad de estos tratamientos.

La búsqueda en Medline se efectuó via OVID (1950 – Tercera semana de Octubre, 2011) usando una búsqueda de alta sensibilidad (fases 1 y 2) constituida por búsquedas separadas utilizando los términos “*uveitis*” junto a uno de los siguientes términos asociados: *adalimumab*, *etanercept*, *infliximab*, *golimumab*, o *certolizumab*. Además se efectuaron búsquedas adicionales usando otras bases de datos: la “Cochrane Library” (volumen 7, 2011; buscado hasta julio 2011) así como en las bases de datos LILACS y TRIP (hasta el 27 de julio de 2011). En estas búsquedas no se establecieron límites adicionales.

Los trabajos fueron considerados para su inclusión en esta revisión si evaluaban el uso de un agente anti-TNF- α en pacientes con uveítis previamente documentada. Algunos estudios fueron analizados incluso en el caso de que sólo una parte de los pacientes incluidos cumplieran los criterios de estudio. Se excluyeron aquellos estudios constituidos solamente por una editorial o artículo de opinión así como aquellos que reportaban un solo caso. No se limitó la inclusión en función del país de origen, aunque sólo se incluyeron artículos escritos en inglés. Se incluyeron estudios analizando cualquier subtipo de uveítis. Tampoco se limitaron las inclusiones de estudios en función de los resultados.

Para asignar los correspondientes niveles de evidencia, se utilizaron los niveles de evidencia del “Oxford Centre for Evidence-based Medicine” en este análisis con objeto de establecer el grado de evidencia aportada por cada estudio.²³²

De esta forma se seleccionaron 579 estudios para su evaluación, de los que 485 fueron excluidos basándose en una revisión del abstract. Noventa y cuatro estudios fueron seleccionados para una revisión en profundidad de los que 40 fueron excluidos en base a un análisis del texto en profundidad. Finalmente 54 estudios reunieron los criterios de inclusión y fueron incluidos en esta revisión. La Tabla 3 muestra un resumen con los niveles de evidencia encontrados para los distintos agentes anti-TNF. Estos niveles de evidencia se establecieron en base a los niveles de evidencia del “Oxford Centre for Evidence-based Medicine” (adaptación de Mayo 2010) que gradaría los estudios de la siguiente forma: (1a) revisiones sistemáticas de ensayos clínicos randomizados homogéneos; (1b) ensayos clínicos randomizados individuales con intervalos de confianza muy estrechos; (1c) ensayos en los que todos (o ninguno) los pacientes se curan; (2a) revisiones sistemáticas de estudios de cohortes homogéneos; (2b) estudios de cohortes individuales o ensayos clínicos randomizados de baja calidad; (2c) estudios de resultados y estudios ecológicos; (3a) revisiones sistemáticas de estudios de casos y controles homogéneos; (3b) estudios individuales de casos y controles; (4) series de casos y estudios de cohortes y/o casos y controles de baja calidad; y (5) opiniones de expertos sin estudios de base y/o basadas en fisiología o estudios observacionales.

Tabla 3

<u>Tratamiento</u>	<u>Conclusión</u>	<u>Recomendación</u>	<u>Nivel de Evidencia</u>
Adalimumab	Eficaz en uveítis inmuno-mediada	C	2b
Certolizumab	No evaluado en uveítis inmuno-mediada	Sin recomendación	No aplicable
Etanercept	Ineficaz en uveítis inmuno-mediada	A	1b
Golimumab	Eficaz en uveítis inmuno-mediada	C	4
Infliximab	Eficaz en uveítis inmuno-mediada	C	2b

*Basado en los “Oxford Centre for Evidence-Based Medicine Levels of Evidence” de Marzo de 2009.

La Tabla 4 resume los efectos secundarios reportados en los diversos estudios y clasificados en función del agente que los produjo. Un total de 1224 pacientes de 10 de los estudios incluidos, fueron excluidos debido a: 1) Ausencia de historia de uveítis previa al tratamiento con anti-TNF, o 2) tratamiento con otro agente biológico no anti-TNF.

Respecto a la comunicación de los resultados clínicos, se observó una gran heterogeneidad entre los diversos estudios incluidos lo que dificulta mucho una hipotética comparación. En primer lugar, el grado de inflamación de los ojos tratados se estableció en base a criterios tremendamente diversos (con distintos conceptos de lo que se consideraba “mejoría”, empeoramiento”, “ineficacia” o “éxito terapéutico”) ²³³⁻²⁴⁰ que además no se especificaban en el 30% de los estudios incluidos. Además, en todos los estudios se emplearon otros agentes inmunosupresores/inmunomoduladores (incluyendo esteroides sistémicos) de manera concomitante durante el periodo de estudio. En un 24% de los estudios incluidos se recogieron (de una u otra forma) los cambios en la carga inmunosupresora total antes y después del tratamiento con el agente anti-TNF en cuestión, aunque sólo uno de los estudios lo hizo de una forma reglada con una escala semicuantitativa. ²⁴¹ Sólo se logró la remisión de la uveítis una vez abandonado el tratamiento anti-TNF, sin recaídas durante el periodo de estudio, en 10 pacientes.

Resultados documentados por fármaco

Adalimumab

El diseño de los estudios incluidos evaluando la eficacia clínica del adalimumab es muy variable, incluyendo tres ensayos no randomizados (“open trials”), ²⁴¹⁻²⁴³ un estudio de corte, ²⁴⁴ un estudio prospectivo, ²⁴⁵ y diez estudios retrospectivos y/o series de casos. ²⁴⁶⁻²⁵⁶ Fueron analizados cuatrocientos veinte pacientes con multitud de diagnósticos. La Tabla 5 resume los diagnósticos específicos de cada uno de los pacientes incluidos. Algunos pacientes fueron excluidos de 4 de los estudios analizados debido a que no reunían todos los criterios de inclusión. ^{242, 245, 253, 256} Diez pacientes dejaron el tratamiento durante el periodo de seguimiento reportado en los estudios incluidos, con una tasa de abandono de 0.018 por paciente/por año de seguimiento. Las razones para este abandono fueron muy diversas y están especificadas en la Tabla 4. Tres de los estudios incluidos no especificaron los abandonos de tratamiento. ^{242, 245, 255} La dosis de tratamiento más frecuentemente reportada de adalimumab subcutáneo fue de 40mg cada 2 semanas en el 70% de los estudios. Otras pautas de dosificación fueron observadas en 5 de los estudios incluidos, todos ellos enfocados a pacientes pediátricos. ^{243, 245, 246, 251,} ²⁵² En estos estudios las dosis incluyeron 20-40 mg/1-2 semanas, 25 mg/m²/1-2 semanas, 0.4-1.5mg/kg peso corporal/1-2 semanas, 24mg/m²/2 semanas y 40

mg/m²/semana, con una dosis máxima de 40mg a la semana. La variable de medida de eficacia más frecuentemente analizada fué el grado de inflamación ocular, en un 76% de los estudios incluidos. Cuatro de estos trabajos seguían los criterios del grupo SUN (Standardization of Uveitis Nomenclature) ³ para la evaluación del grado de inflamación ocular, ^{241, 243, 248, 251} tres seguían los criterios de Foster et al. ²³³ para dicha evaluación, ^{252, 253, 256} y el resto no especificaban los criterios seguidos. Sólo un paciente logró la remisión completa (control de su uveítis sin tratamiento) durante el periodo de seguimiento reportado en los estudios incluidos. ²⁵¹ La medida de mejor agudeza visual corregida (MAVC) antes y después del tratamiento fue incluida en el 35% de los estudios, la tasa de recaídas/nuevos brotes antes y después del tratamiento en el 35% de los estudios, y la carga inmunosupresora antes y después del tratamiento en el 23% de los estudios.

Tabla 4:

<u>TX</u>	<u>N (Pacientes)</u>	<u>N (Abandono de tratamiento)</u>	<u>Razón para abandono tratamiento</u>	<u>N (Efectos secundarios por pacientes)</u>	<u>Tasa abandono del tratamiento (abandonos/por paciente incluido/por año de seguimiento)</u>
<i>Adalimumab</i>	420	10	Ineficacia	8	0.018
			Elevación de enzimas hepáticas	1	
			Mal control de la uveítis	1	
<i>Infliximab</i>	517	43	Ineficacia	13	0.058
			Mal control de la uveítis	9	
			Reacción infusional/Hipersensibilidad retardada	5	
			Tuberculosis activa	3	
			Síndrome Lupus-like	3	
			Leucopenia	2	
			Pérdida de seguimiento	2	
			Aparición de anticuerpos anticardiolipina IgM	1	
			Rash cutáneo	1	
			Tromboembolismo pulmonar	1	
			Decisión del paciente	1	
			Rebrote de dermatitis atópica	1	
			Intolerancia no especificada	1	
<i>Etanercept</i>	154	34	Ineficacia	26	0.160
			Celulitis de antebrazo	1	
			Rash cutáneo	1	
			Dificultades para la inyección	1	
			Pérdida de seguimiento	1	
			Esofagitis	1	
			Mal cumplimiento	1	
			Ablación retiniana	1	
Empeoramiento de narcolepsia/cataplejía	1				
<i>Golimumab</i>	2	0	N/A	0	N/A

Otras variables analizadas incluían el grosor central macular,²⁴¹ el tiempo hasta el control de la inflamación,²⁴³ el tiempo hasta el abandono de la terapia corticoidea concomitante²⁴³, y un índice (compuesto por variables diversas) de respuesta al tratamiento.²⁴⁴ El periodo de seguimiento de los estudios incluidos oscilaba entre las 8 semanas²⁴⁶ y los 5 años.²⁴⁵

Infliximab

Los estudios sobre la eficacia del infliximab en el manejo de las uveítis incluyeron 4 ensayos no randomizados (“open trials”),^{243, 257-260} un estudio de corte,²⁴⁴ 12 estudios prospectivos,^{78, 261-271} y 33 estudios retrospectivos/series de casos.^{251, 254-256, 272-295} Un total de 517 pacientes que reunían todos los criterios de inclusión fueron incluidos. La Tabla 5 resume los diagnósticos específicos de todos los pacientes incluidos. Del total de pacientes de este estudio, 43 pacientes abandonaron el tratamiento durante el periodo de estudio con una tasa de abandono de 0.058/por paciente/por año de seguimiento. Las razones de este abandono están especificadas en la tabla 4. Uno de los estudios incluidos no especificaba los abandonos de tratamiento.²⁵⁵ Una dosis de inducción de 5 mg/kg en las semanas 0, 4, 6 y posteriormente administrada en intervalos de 4 a 8 semanas en función de la respuesta clínica es la pauta más reportada en los estudios incluidos (en el 51% de los mismos). El resto de los estudios incluidos utilizaban dosis diversas que variaban entre los 3mg/Kg y los 10mg/Kg a excepción de un estudio que incluía dosis entre los 10 y los 20 mg/Kg en cada infusión.²⁸⁰ En un estudio, la dosis no se correlacionaba con el peso, utilizando dosis fijas de 200mg.²⁸⁶ Dos de los estudios incluidos evaluaban los resultados de una sola infusión de infliximab.^{77, 263} Entre las variables de medición de eficacia analizadas, el grado de inflamación ocular es la más extendida, incluyéndose en un 73%. Tres de estos trabajos seguían los criterios SUN³ a la hora de establecer el grado de inmunosupresión,^{243, 275, 290} tres seguían los criterios de Foster et al.^{233, 253, 256, 287} tres los criterios de Benezra et al.^{239, 265, 279, 280} cuatro los criterios de Nussenblatt et al.^{235, 236, 259, 260, 263, 264}, tres los criterios de Hogan et al.^{240, 263, 266, 277} uno los criterios de Rao et al.^{237, 251} uno los criterios de Forrester et al.^{237, 261} dos especificaban sus propios criterios^{77, 268} y el resto no especificaban los criterios seguidos a la hora de valorar el grado de inflamación. Sólo 12 pacientes de 5 estudios lograron una remisión completa sin tratamiento durante el periodo de seguimiento.^{257, 272, 275, 270, 289}

La MAVC antes y después del tratamiento fué analizada en el 77% de los estudios incluidos, la tasa de recaídas/nuevos brotes antes y después del tratamiento en el 30%, y la carga inmunosupresora antes y después del tratamiento en el 22% de los estudios. Otras variables analizadas fueron un índice compuesto (por diversas variables) de medida de eficacia,²⁴⁴ el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento hasta el control de la inflamación,^{243, 269, 297} el tiempo hasta el abandono de terapia con esteroides,²⁴³ grado de empeoramiento del glaucoma,²⁹⁸ concentraciones séricas de infliximab,^{258, 274} grosor macular central,²⁶⁷ presencia de anticuerpos anti-infliximab²⁷³ y niveles de linfocitos T-reguladores.²⁷³ El periodo de seguimiento en los estudios incluidos oscilaba entre las 4 semanas²⁶³ y más de 5 años.²⁹⁰

Etanercept

Dos ensayos clínicos randomizados,^{299, 300} un estudio de corte,²⁴⁴ un estudio prospectivo,^{301, 302} y siete estudios retrospectivos y/o series de casos^{244, 254, 255, 297, 298, 303-305} han tratado de forma específica el uso de etanercept en el manejo de pacientes con uveítis inmuno-mediadas. Un total de 154 pacientes que cumplían todos los criterios de inclusión fueron incluidos en esta revisión. La Tabla 5 resume los diagnósticos específicos de todos los pacientes incluidos. Treinta y cuatro pacientes hubieron de abandonar el tratamiento con etanercept durante el periodo de seguimiento con una tasa de abandono de 0.160% por paciente/por año de seguimiento. Las razones para el abandono están especificadas en la Tabla 4. Conviene destacar que solamente 59 de los 267 pacientes incluidos en los estudios analizados fueron finalmente incluidos en la revisión dado que eran los únicos en cumplir todos los criterios.^{297, 303, 305} La dosis máxima de etanercept subcutáneo utilizada fue de 25mg/dos veces a la semana, apareciendo en el 45% de los trabajos. El resto de estudios reportaron otras dosis, mientras que en 2 de los estudios incluidos la dosis no fue especificada.^{244, 255} La variable de valoración de la eficacia terapéutica más frecuentemente utilizada, en el 45% de los estudios, fue el grado de inflamación ocular, aunque los criterios utilizados en dicha valoración sólo fueron especificados en dos estudios.³⁰¹⁻³⁰³ Veintiseis pacientes abandonaron de abandonar el tratamiento durante el periodo de seguimiento debido a su ineficacia, y ninguno de los pacientes tratados logró una remisión completa sin tratamiento. La MAVC antes y después del tratamiento se incluyó en el 45% de los estudios, la tasa de recaídas/nuevos brotes así como la carga inmunosupresora antes y después del tratamiento fueron utilizadas en el 36% de los estudios. Otras medidas de

eficacia terapéutica utilizadas incluyeron un índice compuesto (por diversas variables) de respuesta al tratamiento,²⁴⁴ tiempo necesario hasta lograr la remisión completa,²⁹⁷ y evolución de glaucoma pre-existente.²⁹⁸ El tiempo de seguimiento de los pacientes incluidos varió entre los 6 y los 42 meses.³⁰⁵

Tabla 5

<u>Diagnósticos</u>	<u>Adalimumab</u>	<u>Infliximab</u>	<u>Etanercept</u>	<u>Golimumab</u>	<u>Total</u>
Uveítis asociada a pseudotumor vascular del adulto	0	1	0	0	1
Uveítis asociada a EA	275	2	2	0	279
Uveítis asociada a Behçet	28	224	2	0	254
BSRC	4	6	0	0	10
Uveítis asociada a enfermedad de Crohn	1	3	0	0	4
Uveítis anterior idiopática	12	41	14	0	65
Pars planitis	3	26	2	0	30
Uveítis posterior idiopática	3	12	0	1	16
Panuveítis idiopática	5	19	1	0	25
Uveítis asociada a AIJ	76	126	117	1	316
CMP	0	1	0	0	1
Uveítis asociada a espondiloartritis no diferenciada	8	26	13	0	47
Uveítis asociada a psoriasis	0	4	0	0	4
Uveítis asociada a AR	1	1	1	0	3
Uveítis asociada a sarcoidosis	2	15	0	0	17
OS	0	2	0	0	2
Uveítis asociada a LES	0	0	2	0	2
VKH	2	8	0	0	10
Total	420	517	154	2	1093

*EA: Espondilitis anquilopoyética;BSRC: Retinocoroidopatía Birdshot; AIJ: Artritis idiopática juvenil; CMP: Coroiditis multifocal y panuveítis; AR: Artritis reumatoide; OS: Oftalmia simpática; LES: Lupus eritematoso sistémico; VKH: Vogt-Koyanagi-Harada.

Golimumab

Solamente se ha publicado una serie de casos sobre el uso de golimumab para el manejo de las uveítis que incluía dos pacientes (uno con uveítis anterior asociada a artritis idiopática juvenil (AIJ) y otro con vasculitis retiniana idiopática) con un corto periodo

de seguimiento, de 6 y 7 meses respectivamente.¹²⁸ Las dosis empleadas de golimumab fueron de 50mg cada 4 semanas.

Certolizumab

No se han publicado estudios sobre el uso de certolizumab para el manejo de las uveítis inmuno-mediadas.

Agentes anti-TNF intravítreos

Por lo que se refiere al uso intravítreo de agentes inhibidores del TNF, se analizaron dos estudios (ambos series de casos prospectivas no-comparativas), que incluían 15 pacientes.^{306,307} Un estudio describía el uso de adalimumab intravítreo en pacientes con uveítis aparentemente controladas y edema macular concurrente, asociadas a múltiples enfermedades (2 pacientes con síndrome de Behcet, 1 paciente con uveítis asociada a AIJ, 2 pacientes con uveítis asociada a HLAB27+, un paciente con uveítis asociada a sarcoidosis, un paciente con panuveítis idiopática y un paciente con pars planitis).³⁰⁶ El otro estudio reflejaba el uso de infliximab intravítreo para el tratamiento de uveítis crónicas refractarias, e incluía pacientes con uveítis asociada a síndrome de Behcet (4), a AIJ (1), coroiditis multifocal y panuveítis (1) y uveítis idiopática (1).³⁰⁷ Las dosis de tratamiento fueron de 0.5mg/0.05ml (para la inyección basal) y reinyecciones de dosis crecientes de 1mg/0.05ml (meses 1 y 2) hasta un total de 4 inyecciones de adalimumab intravítreo, y de 1.5mg/0.15ml en inyección única para el infliximab intravítreo. Las medidas de eficacia terapéutica utilizadas incluyeron los cambios en MAVC al inicio así como a los 3 y 6 meses tras la inyección y los cambios en el grosor macular central, con la misma periodicidad que la MAVC, en el estudio de adalimumab (ninguna de las cuales resultó estadísticamente significativa). En el estudio de infliximab se valoraron los cambios en MAVC, grosor macular central, y turbidez vítrea (resultando estadísticamente significativas). Tres de los pacientes en el estudio de adalimumab (2 por decisión unilateral del paciente y 1 por pérdida de seguimiento) y ninguno en el de infliximab abandonaron el tratamiento durante el periodo de seguimiento. El periodo de seguimiento ascendió a 6 meses en el estudio de adalimumab y 1 en el de infliximab.

En definitiva, y como resumen de esta revisión sistemática, podemos afirmar que ésta demuestra que la terapia con infliximab y adalimumab parece ser eficaz en el manejo de uveítis no-infecciosas inmuno-mediadas con un nivel de recomendación C y un nivel de

evidencia de 2b, mientras el tratamiento con etanercept parece ser ineficaz con un nivel de recomendación A y un nivel de evidencia de 1b. En conjunto el porcentaje reportado de individuos con efectos secundarios significativos asociados al uso de anti-TNF- α en uveítis es del 2.2% (26 de 1147 pacientes reportados). Sin embargo, persiste una falta de ensayos clínicos randomizados bien diseñados con un número de pacientes lo suficientemente grande que ya ha sido puesta de relieve en otras revisiones sistemáticas.

63

Esta revisión presenta varias limitaciones que incluyen el deficiente diseño de los estudios, que además, en su mayor parte, eran series de casos y estudios de cohortes y casos/controles de escasa calidad estadística, además de una gran heterogeneidad de las variables de estudio. Además, la ausencia de métodos estandarizados para evaluar la eficacia de los tratamientos para la uveítis así como la variabilidad tan grande en las medidas de resultados, añadieron aún más limitaciones a esta revisión. Otra limitación sería la gran variabilidad etiológica de las uveítis de los pacientes incluidos en la mayor parte de los estudios. Finalmente, y como ha podido observarse en el desarrollo de este trabajo, las dosis y frecuencia de administración de cada uno de los agentes, difieren enormemente entre los estudios incluidos

En un intento de resumir la eficacia clínica de los fármacos analizados e incluidos en esta revisión, parece que infliximab y adalimumab constituyen opciones terapéuticas de similar eficacia, y ambas pueden ser consideradas como opciones terapéuticas de primera línea cuando se decide tratamiento con agentes anti-TNF- α para las uveítis. Ambos ofrecen un perfil de acción similar pero diferentes vías de administración, posologías, precio etc, y por tanto la elección para usar uno u otro estaría relacionada con aspectos que van más allá de la clínica. La eficacia clínica de golimumab y certolizumab necesita ser todavía demostrada, y por tanto consideramos a ambos sólo una alternativa para aquellos pacientes que no responden a tratamientos anti-TNF- α de primera línea. Finalmente, etanercept ha demostrado malos resultados al usarse para tratamiento de las uveítis, y por lo tanto lo descartamos como opción terapéutica para esta indicación.

Lo que parece claro, es la necesidad de ensayos clínicos randomizados con métodos de evaluación estandarizados para proporcionar evidencias consistentes sobre la eficacia y seguridad de esta opción terapéutica.

2-HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

2.1. Hipótesis.

La eficacia clínica de los fármacos anti-TNF sobre diversas patologías autoinmunes, ha quedado confirmada en diversos trabajos, sin embargo los mecanismos antiinflamatorios e inmunomoduladores por los que actúa en pacientes con uveítis continúan siendo escasamente conocidos.

Por esta razón, en el presente estudio se ha enunciado la siguiente hipótesis:

Adalimumab modifica la historia natural de la uveítis no infecciosas inmunomediadas mediante una potente acción inmunomoduladora ejercida al actuar selectivamente sobre determinadas rutas de la respuesta inmune y sobre los linfocitos T.

2.2. Objetivos del estudio.

- 1- Analizar la respuesta clínica (eficacia terapéutica) al tratamiento con un agente anti-TNF (adalimumab) en pacientes con diversos tipos de uveítis inmuno-mediadas refractarias.
- 2- Determinar si el uso de un agente anti-TNF (adalimumab) en uveítis refractarias induce cambios en la respuesta inmune inflamatoria que no se observan cuando se utilizan otros fármacos anti-inflamatorios, como los esteroides.
- 3- Estudiar la respuesta inmune celular inducida por adalimumab en uveítis refractarias.
- 4- Valorar si las respuestas inducidas por adalimumab están directamente relacionadas con la actividad clínica de la enfermedad y/o con un cambio en su historia natural.

3-MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Tipo y diseño del estudio.

Estudio prospectivo observacional no-randomizado de casos y controles.

Periodo seguimiento de estudio de 6 meses.

Grupo de pacientes con uveítis (n=22) y de controles sanos (n=25).

Adalimumab (Humira ®), anticuerpo monoclonal humano anti-TNF α , fue seleccionado como terapia de rescate en 12 pacientes. Todos ellos recibieron 40mg de adalimumab subcutáneo cada 14 días sin modificación de la pauta de tratamiento durante el periodo de estudio. Los 10 pacientes restantes fueron tratados con esteroides.

Todos los pacientes fueron evaluados clínica (exploración oftalmológica descrita en sección 3.3) e inmunológicamente al menos en dos ocasiones (basal, antes de iniciar el tratamiento (t_0), otra al mes de iniciar el tratamiento (t_1), y una tercera, en el grupo de pacientes tratados con adalimumab, a los 6 meses de iniciar el tratamiento (t_2)) durante el periodo de seguimiento.

3.2. Selección de pacientes.

3.2.1 Criterios de inclusión

Se seleccionaron un total de 12 pacientes (19 ojos) con uveítis crónica y una duración mínima de su patología de 6 meses, que habían sido refractarios a tratamiento con otros agentes inmunosupresores/inmunomoduladores sistémicos.. Ninguno de ellos había recibido corticoides sistémicos y/o loco-regionales en los 30 días previos al inicio del tratamiento con adalimumab. En todos los pacientes se descartó una posible tuberculosis latente (con radiografía de tórax en 2 posiciones, inyección intradérmica de Mantoux/PPD y Quantiferon-TB Gold) así como una infección previa por el virus de la hepatitis B y C.

3.2.2. Características basales

Los datos clínicos basales de cada uno de los pacientes incluidos (reflejados en la tabla 6) incluyeron información demográfica (edad y sexo), diagnóstico clasificado por localización anatómica según los criterios SUN,³ lateralidad de la enfermedad, actividad de la posible enfermedad sistémica asociada y tratamientos sistémicos empleados

previamente en el tratamiento de la uveítis. La media de edad fué de 36.16 años (rango de 14-58), y se incluyeron pacientes con una gran variedad de diagnósticos sistémicos asociados a su patología ocular inflamatoria, así como algunos con cuadros oculares puros. Como puede también observarse en la tabla 6, 4 pacientes presentaban signos compatibles con edema macular (demostrado por la exploración y el estudio OCT y AFG), y 6 signos compatibles con vasculitis retinana activa (demostrada por estudio AFG) antes de iniciar el tratamiento con adalimumab.

Tabla 6: Características de los pacientes antes del tratamiento con Adalimumab.

Paciente	Edad	Sexo	Diagnóstico	Actividad de enfermedad sistémica	OCT/AFG puntuación**	Tratamiento sistémico previo
1	58	H	Panuveítis granulomatosa idiopática	N/A	1	MM
2	27	M	Uveítis anterior no-granulomatosa, EA	Activo	0	Prednisona
3	18	H	Panuveítis no-granulomatosa, VKH	Inactivo	2	Metotrexate
4	34	H	Panuveítis no-granulomatosa, EB	Activo	2	Ciclosporina A
5	48	H	Panuveítis no-granulomatosa, EB	Inactivo	2	Ciclosporina A
6	58	M	Panuveítis no-granulomatosa, LES	Inactivo	1+2	MM
7	36	H	Uveítis anterior no-granulomatosa, EpA	Inactivo	0	Prednisona
8	14	M	Uveítis anterior no-granulomatosa, AIJ	Inactivo	0	Metotrexate
9	31	H	Uveítis anterior no-granulomatosa, AIJ	Activo	0	Metotrexate
10	28	M	Uveítis anterior no-granulomatosa, AIJ	Activo	1	AINEs, Metotrexate
11	49	H	Uveítis intermedia no-granulomatosa, EA	Inactivo	1+2	Metotrexate
12	33	H	Uveítis intermedia no-granulomatosa, EA	Activo	2	Ciclosporina A

AFG = Angiografía de fluoresceína; AIJ = Artritis idiopática juvenil; AR = Artritis reumatoide; EB = Enfermedad de Behcet; EA = Espondilitis anquilopoyética; EpA = Espondiloartritis; LES = Lupus Eritematoso Sistémico; MM: Micofenolato mofetil; N/A = No aplicable; OCT = Tomografía de coherencia óptica; VKH = Vogt-Koyanagi-Harada; **OCT/ AFG puntuación: 0 = no signos de inflamación; 1 = Edema macular quístico (EMQ); 2 = vasculitis; 1+2 = EMQ + vasculitis. CA Infl / Vitr Infl = inflamación cámara anterior/inflamación vítrea.

3.2.3 Selección de controles (grupo esteroides).

Un total de 10 pacientes (15 ojos) adicionales a los descritos en el punto 3.2.1., con uveítis activas crónicas y una media de edad de 49 años (rango entre 28-81), que no habían recibido tratamiento sistémico previo para su enfermedad ocular, fueron seleccionados para comparar los resultados obtenidos con los pacientes tratados con adalimumab, recibiendo tratamiento sistémico con esteroides . Las características basales de estos pacientes quedan reflejadas en la tabla 7. Este grupo incluía 5 pacientes con uveítis endógenas y otros 5 pacientes con uveítis secundarias a procesos sistémicos. Todos los pacientes incluidos en este grupo habían tenido al menos un episodio previo (al episodio objeto de tratamiento en este estudio) de uveítis en los 12 meses pasados. Todos ellos fueron tratados con prednisona a una dosis inicial de 1mg/Kg al día, que fue lentamente descendida en función de la actividad inflamatoria del cuadro ocular. Para controlar la posible variabilidad y las potenciales diferencias inmunológicas entre la población normal, 25 pacientes sanos con edades comparables fueron seleccionados (a partir de análisis rutinarios de sangre en estudios preoperatorios) para ser utilizados como controles sanos.

Tabla 7: Características de los pacientes antes del tratamiento con Adalimumab.

Control (esteroides)	Edad	Sexo	Diagnosis	Actividad de enfermedad sistémica	OCT/FA puntuación**	Tratamiento sistémico previo
1	37	H	Uveítis anterior no granulomatosa, AIJ	Inactiva	0	No
2	46	H	Uveítis intermedia, EA	Activa	1	No
3	62	H	Uveítis intermedia, AR	Activa	1	No
4	38	M	Uveítis intermedia idiopática (Pars planitis)	N/A	0	No
5	45	M	Esclerouveítis anterior no granulomatosa, AR	Activa	0	No
6	28	H	Uveítis anterior no granulomatosa, HLAB27+	N/A	0	No
7	39	M	Uveítis anterior granulomatosa, Sarcoidosis	N/A	0	No
8	80	H	Panuveítis no granulomatosa idiopática	N/A	1	No
9	81	H	Uveítis intermedia idiopática (Pars planitis)	N/A	0	No
10	34	H	Uveítis anterior no granulomatosa idiopática	N/A	0	No

AFG = Angiografía de fluoresceína; AIJ = Artritis idiopática juvenil; AR = Artritis reumatoide; EA = Espondilitis anquilopoyética; N/A = No aplicable; OCT = Tomografía de coherencia óptica; **OCT/ AFG puntuación: 0 = no signos de inflamación; 1 = Edema macular quístico (EMQ); 2 = vasculitis; 1+2 = EMQ + vasculitis..

3.3. Evaluación oftalmológica. Variables de estudio.

3.3.1. Agudeza visual.

La agudeza visual mejor corregida (previa refracción objetiva y subjetiva) de todos los pacientes se midió con el test de Snellen en cada una de las evaluaciones oftalmológicas del estudio.

3.3.2. Exploración biomicroscópica.

Todos los pacientes fueron evaluados biomicroscópicamente, al menos en cada una de las tres visitas obligadas del estudio, por el mismo oftalmólogo, estableciendo el grado de inflamación ocular en cámara anterior mediante la lámpara de hendidura, y el grado de inflamación vítrea mediante la exploración con binocular y lente de 28D. Los criterios seguidos para establecer el grado de inflamación intraocular se especifican en el punto 3.3.5.

3.3.3 Tomografía de coherencia óptica (OCT).

Todos los pacientes fueron evaluados mediante OCT (Stratus III, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) al menos en cada una de las visitas obligadas del estudio, por el mismo oftalmólogo. El grosor retiniano (macular) central (1mm) se midió utilizando la estrategia “fast macula scan”.

3.3.4. Angiografía fluoresceínica (AFG).

Todos los pacientes fueron evaluados mediante AFG al menos dos veces (antes y después del tratamiento, en un intervalo variable pero nunca inferior a dos meses desde el inicio de la terapia con adalimumab) para objetivar la presencia o no de vasculitis retiniana activa (definida como la extravasación vascular localizada de contraste).

3.3.5. Criterios de gradación de la inflamación.

Para establecer el grado de inflamación se utilizaron los criterios propuestos por el grupo SUN.³ De esta forma (y como puede observarse en las figuras 7 y 8) se siguieron las pautas recomendadas para gradación de células en cámara anterior (figura 7), y aquellas recomendadas por el mismo grupo (y antes por Nussenblatt et al.²³⁵) para la gradación de la inflamación vítrea (figura 8). Además consideramos “inactiva” a toda aquella uveítis que presentase grado 0 de inflamación en ambas escalas (cámara anterior y cavidad vítrea) así como ausencia de vasculitis y/o edema macular. Además definimos “mejoría” como un descenso de dos niveles en el grado de inflamación (en cámara anterior o cavidad vítrea) o descenso a grado 0.

Figura 7. Gradación de inflamación en cámara anterior según el grupo SUN.³

Grado	Células por campo
0	<1
0.5+	1-5
1+	6-15
2+	16-25
3+	26-50
4+	>50

Figura 8. Gradación de inflamación en cavidad vítrea según Nussenblatt et al²³⁵ (aceptado por el grupo SUN).³



3.4. Evaluación inmunológica. Variables de estudio.

3.4.1. Obtención y procesamiento de muestras.

De ambos grupos de pacientes (grupo tratado con adalimumab y grupo control tratado con esteroides) se obtuvieron muestras de sangre venosa periférica. Estas muestras fueron 3 en el grupo de adalimumab: Una obtenida inmediatamente antes de iniciar el tratamiento (t_0), otra obtenida al mes de iniciar el tratamiento (t_1) y otra obtenida a los 6 meses de iniciar el tratamiento (t_2). En el grupo control tratado con esteroides sólo se obtuvieron las 2 muestras iniciales, dado que tres meses después de haberse iniciado, ninguno seguía a tratamiento con esteroides por haber remitido el cuadro inflamatorio.

3.4.2. Determinación de subpoblaciones celulares.

Los niveles totales de linfocitos T CD3+, CD4+ y CD8+ fueron estudiados en las pertinentes muestras de sangre total periférica a t_0 y t_1 (en el grupo de adalimumab y en el de esteroides) y a t_3 (sólo en el grupo de adalimumab) usando un citómetro de flujo (Becton Dickinson, FACSCanto). Los números absolutos de células fueron obtenidos mediante el uso de “Trucount tubes” (Becton Dickinson, USA).

3.4.3. Determinación y caracterización de linfocitos T-reguladores.

El fenotipaje de linfocitos T-reguladores se efectuó sobre células mononucleares obtenidas de la muestra de sangre periférica purificadas mediante el gradiente “Ficoll”. Los siguientes anticuerpos monoclonales marcados por fluorocromo fueron usados para la tinción celular superficial: CD3 (clon SK7) y CD25 (clon 2A3) (Becton Dickinson, Nj, USA), CD4 (clon RPA-T4) y CD127 (clon M21) (PharMingen, Ca, USA). Para la tinción intracelular, las células fueron fijadas y permeabilizadas antes de añadir el Fox p3 anti-humano (clon 259D/C7 de PharMingen, Ca, USA). En todos los experimentos se incluyeron controles con isotipos acordes. Las muestras fueron analizadas en un citómetro de flujo provisto con dos láseres (FACS Canto, Becton Dickinson, Nj, Usa), y reanalizados con software “FlowJo”. El número medio de células CD3⁺ CD4⁺ analizadas en cada muestra hubo de ser de al menos 30000. Se definieron las siguientes poblaciones: Número total CD3 CD4 (células CD3⁺ CD4⁺), número total de células T CD25 (CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺), número total de células T que co-expresen CD25 y FoxP3 (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{high} FoxP3⁺) y células T-reguladoras (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{high}

FoxP3⁺ CD127⁻). Los porcentajes y números absolutos reflejados en el estudio se referirán siempre al número total de células CD3⁺ CD4⁺.

3.4.4. Determinación de citoquinas y quimioquinas.

Para estas determinaciones, se obtuvieron 2 alícuotas de sangre de cada uno de los pacientes (grupo tratado con adalimumab y grupo control tratado con esteroides) que se congelaron inmediatamente a -70° C para ulteriores determinaciones. Con objeto de minimizar las variaciones intra- e interexperimentales, una alícuota de cada paciente o control fue analizada en duplicado para cada determinación y replicada en una nueva determinación con la alícuota remanente. La variabilidad interexperimental fue siempre menor del 10%.

Se estudiaron las siguientes citoquinas: IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL22, tumor necrosis factor-alpha (TNF α), vascular endothelial growth factor (VEGF). Todas ellas salvo la IL-22 fueron medidas mediante tecnología “Cytometric bead array” (CBA) (Becton-Dickinson, USA), adquirida en un citómetro FACSCanto y analizada con software “FCAP Array” (Becton-Dickinson, USA). Los límites de detección fueron: 7.2 pg/ml para IL-1 β ; 2.5 pg/ml para IL-6; 3.3 pg/ml para IL-10; 1.9 pg/ml para IL-12p70; 5.4 pg/ml para IL-17A; 3.7 pg/ml para TNF α , y 2.5 pg/ml para VEGF. La IL-22 se midió con ELISA (R&D Systems, Mn, USA) y el límite de detección fue de 2.7 pg/ml. Se estudiaron además las siguientes quimioquinas: MCP-1, IP-10, MIG. Los límites de detección fueron: 2.7 pg/ml para MCP-1; 2.8 pg/ml para IP-10, y 2.5 pg/ml para MIG. Por cuestiones estadísticas, el nivel mínimo de detección (tanto para citoquinas como para quimioquinas) se fijó en 1 pg/ml.

3.4.5. Determinación de reactantes de fase aguda.

También se determinaron, tanto en el grupo tratado con adalimumab como en el grupo control tratado con esteroides, los niveles de biomarcadores inflamatorios convencionales como el amiloide sérico A (por nefelometría, SIEMENS, con un nivel mínimo de detección de límite 0.28 mg/l), así como los de proteína C reactiva (por inmunoturbidímetro, Roche, con nivel mínimo de detección de 0.15 mg/l).

3.5. Retirada del estudio y uso de otros tratamientos concomitantes.

Todos los pacientes (así como los controles enfermos) firmaron un consentimiento informado (aprobado por la Comisión Ética del Hospital Universitario de León) que especificaba los pros y contras del tratamiento y que los datos clínicos de este tratamiento podrían ser utilizados con fines de divulgación científica siempre respetando los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes fueron debidamente informados de la posibilidad de abandono del tratamiento, siempre que así lo estimasen oportuno, en cualquier momento del mismo.

Adalimumab fue el único agente inmunosupresor sistémico utilizado en 9 de los pacientes incluidos, mientras que en tres de estos pacientes, pacientes 3, 4 y 9, la terapia con adalimumab se usó asociada a terapia inmunosupresora sistémica previa, cuya pauta no se modificó en todo el periodo del estudio. El tratamiento concomitante con esteroides tópicos se permitió en el grupo de pacientes tratados con esteroides en caso de requerirse, no así en el grupo de pacientes tratados con adalimumab.

Todos los pacientes completaron la pauta de tratamiento sin efectos secundarios remarcables, de tal forma que no hubo ninguna pérdida de seguimiento en ambos grupos

3.6. Análisis estadístico

Todas las variables a estudio fueron analizadas con SPSS versión 17.0. Las variables continuas fueron expresadas como medianas y rangos intercuartílicos. También se usaron tests no paramétricos en el análisis. Las diferencias entre grupos para variables cuantitativas se establecieron mediante los tests de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. El test de Wilcoxon se utilizó para la comparación de muestras apareadas. La dependencia entre variables continuas se estableció usando el test de correlación de Spearman. El modelo lineal general de medidas repetidas fue utilizado para analizar correlaciones entre variables continuas y discretas. Un valor de p de dos colas menor a 0.05 fue seleccionado para rechazar la hipótesis nula

4- RESULTADOS

4.1. Resultados clínicos: Efecto del adalimumab sobre el curso clínico de diversos tipos de uveítis inmunomediadas.

4.1.1. Grado de inflamación y agudeza visual.

La tabla 8 muestra la actividad inflamatoria de los pacientes incluidos en el grupo de adalimumab en los diferentes momentos del estudio. Todos los pacientes que recibieron adalimumab como terapia de rescate respondieron favorablemente tras un mes de tratamiento (t_1). De hecho, 8 de los 12 pacientes tratados presentaban una uveítis *inactiva* (definida en el punto 3.3.5.), mientras que 3 pacientes experimentaron *mejoría* clínica (definida en el punto 3.3.5.), y el paciente restante, pese a la respuesta favorable que no cumplía los criterios de inactividad o mejoría, presentaba actividad de la enfermedad. En t_1 todos los pacientes habían experimentado además mejoría de la agudeza visual en al menos un ojo.

Después de tres meses de tratamiento todos los pacientes presentaban una uveítis *inactiva*. Sin embargo se produjeron 3 recaídas posteriores durante el tiempo de seguimiento (y todavía a tratamiento con adalimumab). El paciente 4, con una panuveítis asociada a enfermedad de Behçet tuvo una recaída tras un periodo de 4 meses con uveítis *inactiva*. En este paciente fue necesario el cambio (que se produjo tras el periodo de seguimiento del estudio) de tratamiento inmunosupresor/inmunomodulador sistémico debido a la agresividad de su enfermedad que ya no respondía al tratamiento con adalimumab. El paciente 9 tuvo una recaída de su uveítis anterior en el ojo derecho asociada a AIJ, que coincidió con el periodo postoperatorio tras cirugía de catarata en ese mismo ojo (que, por cierto, había sido posible gracias al excelente control de la inflamación logrado por adalimumab). En este paciente también fue necesario un cambio (también tras el periodo de seguimiento del estudio) de tratamiento inmunosupresor/inmunomodulador sistémico.

No se observaron efectos secundarios significativos atribuibles al tratamiento con adalimumab (por supuesto ninguno que requiriese abandono del tratamiento) exceptuando leves y transitorias reacciones dermatológicas en el lugar de la inyección (paciente número 2), así como leves infecciones respiratorias del tracto respiratorio superior (en los pacientes 4 y 9).

En el grupo de pacientes tratados con esteroides, el tratamiento con prednisona se detuvo al mes de iniciado en 8 pacientes, mientras que los pacientes 1 y 2 recibieron pequeñas dosis de prednisona durante 2 meses más. En este grupo sólo destacaron formas leves de síndrome cushingoide en los dos pacientes tratados durante 3 meses.

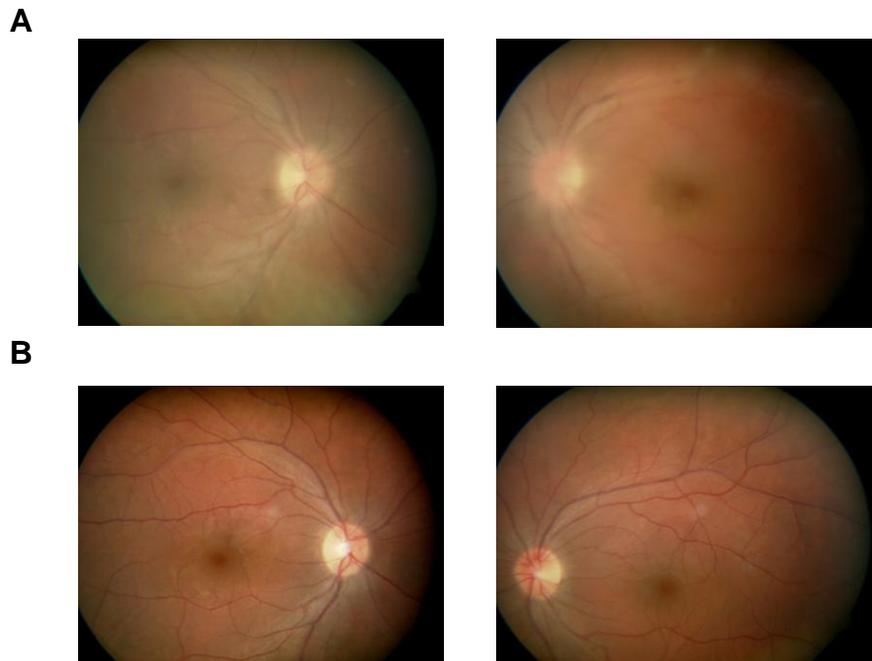


Figura 9. Paciente 12 del grupo tratado con adalimumab. Imágenes de polo posterior de ambos ojos antes (A) y tres meses después del tratamiento con adalimumab demostrando una total recuperación de la inflamación vítrea.

4.1.2. Tomografía de coherencia óptica y angiografía fluoresceínica.

La Tabla 8 muestra los grosores maculares (ver sección 3.3.3. para consultar la estrategia empleada) de ambos ojos de todos los pacientes incluidos en el estudio en las tres visitas obligadas del mismo.

El edema macular, evidente en 4 (pacientes 1, 6, 10 y 11) de los pacientes incluidos antes del tratamiento, había remitido completamente en uno de ellos, mientras que en los 3 restantes se había producido una clara disminución del grosor macular central. A los tres meses de tratamiento, el edema macular se había resuelto completamente también en esos tres pacientes.

Por lo que se refiere a la angiografía con fluoresceína, todos los pacientes fueron reevaluados mediante estudio AFG tras iniciar el tratamiento con adalimumab. Este estudio AFG se realizó en un periodo no inferior a 1 mes y no superior a tres meses tras iniciar el tratamiento con adalimumab. Antes de iniciar el tratamiento, 6 pacientes (pacientes 3, 4, 5, 6, 11 y 12) presentaban signos compatibles con vasculitis retiniana activa en la AFG. En la segunda AFG, los signos de vasculitis activa habían desaparecido en todos ellos.

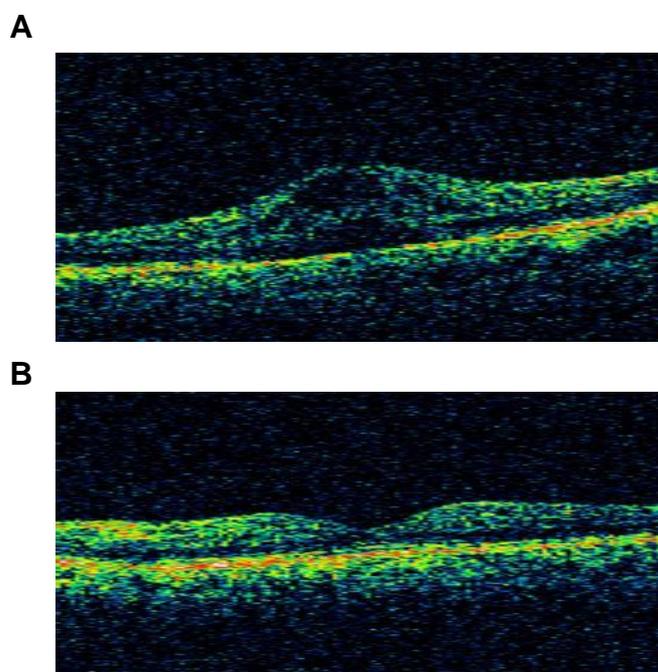


Figura 10. Paciente 10 del grupo tratado con adalimumab. Imagen de OCT del milímetro central macular (foveal) con estrategia “fast macula scan”. Obsérvese el

evidente edema macular quístico en el ojo izquierdo antes del tratamiento (A), que había remitido completamente a los 3 meses de tratamiento (B).

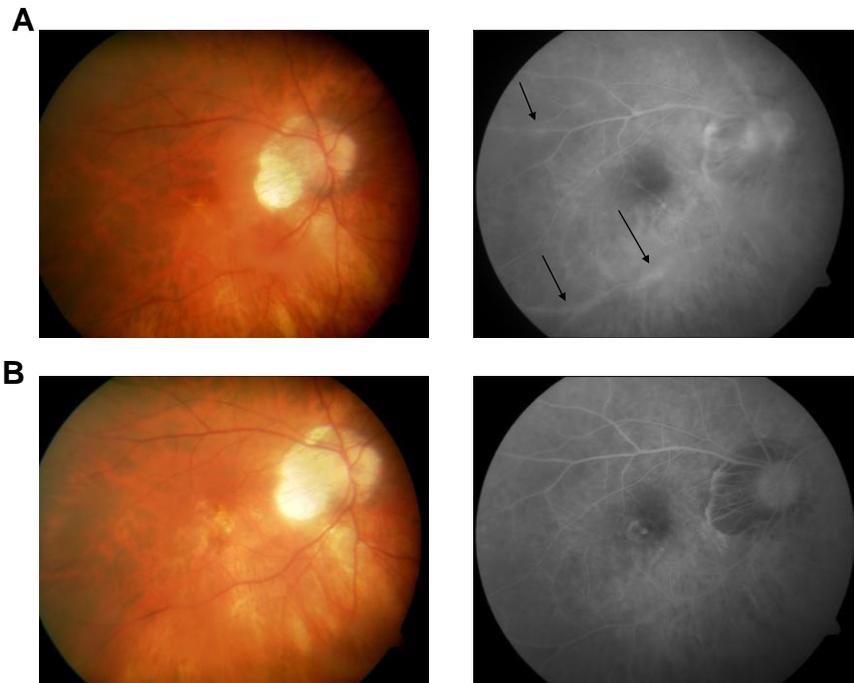


Figura 11. Imagen biomicroscópica de polo posterior (izquierda) e imagen angiográfica (derecha) del paciente 11 del grupo tratado con adalimumab antes (A, a t_0) y después (B, t_1) del tratamiento con adalimumab. Obsérvense los signos de vasculitis activa antes del tratamiento (flechas), que remiten tras sólo 2 infusiones de adalimumab.

Tabla 8. Actividad inflamatoria y grosor macular central de los pacientes incluidos en el grupo de adalimumab en los diferentes momentos del estudio.

Paciente	CA/Vit. Actividad	OCT OD/OI	CA/Vit. Actividad	OCT OD/OI	CA/Vit. Actividad	OCT OD/OI
1	Activo/activo	290/309	Inactivo/activo	300/270	Inactivo/inactivo	220/214
2	Activo/inactivo	227/232	Inactivo/inactivo	216/227	Inactivo/inactivo	208/220
3	Activo/activo	253/236	Inactivo/activo	235/226	Inactivo/inactivo	226/230
4	Activo/activo	227/232	Inactivo/inactivo	219/230	Activo/activo	227/219
5	Inactivo/activo	233/221	Inactivo/inactivo	222/226	Inactivo/inactivo	209/214
6	Activo/activo	242/520	Inactivo/activo	224/469	Inactivo/inactivo	229/206
7	Activo/inactivo	211/210	Inactivo/inactivo	200/207	Inactivo/inactivo	209/212
8	Activo/inactivo	209/220	Inactivo/inactivo	214/210	Inactivo/inactivo	211/223
9	Activo/inactivo	217/211	Inactivo/inactivo	221/219	Activo/inactivo	217/222
10	Activo/inactivo	299/321	Activo/activo	242/300	Inactivo/inactivo	227/242
11	Activo/inactivo	305/219	Inactivo/inactivo	277/221	Inactivo/inactivo	233/230
12	Activo/activo	221/228	Inactivo/inactivo	220/225	Inactivo/inactivo	224/227

Abreviaturas: CA/Vit. Actividad: Actividad inflamatoria en cámara anterior/Actividad inflamatoria en cavidad vítrea; OD: Ojo derecho; OI: Ojo izquierdo; OCT: Tomografía de coherencia óptica.

Los valores de OCT (grosor macular en 1-mm central) se representan en micras (μ).

4.2. Resultados inmunológicos (I): Efecto del adalimumab sobre biomarcadores de respuesta inflamatoria.

4.2.1. Reactantes de fase aguda.

Con el objetivo de valorar posibles influencias de la enfermedad sistémica inmuno-mediada (no presente en todos los pacientes, ya que algunos, como ya hemos detallado presentaban cuadros idiopáticos), valoramos los niveles de biomarcadores inflamatorios habitualmente utilizados en la práctica clínica como son la proteína C reactiva (PCR) y

el amiloide sérico A (SAA). A pesar de que algunos pacientes (5 en el grupo de pacientes tratados con adalimumab, y 3 en el grupo de pacientes tratados con esteroides) tenían una enfermedad sistémica asociada clínicamente activa, la mediana de los valores de ambos biomarcadores, a nivel basal (a t_0), no difería entre ambos grupos de pacientes estudiados (ver tabla 10), lo que resultaba muy importante para descartar un posible sesgo debido a la actividad de la enfermedad sistémica en los cambios observados en los niveles de diversas citoquinas que describiremos en esta sección de resultados. Y esta ausencia de diferencias significativas entre ambos grupos se repetía además al compararlos tras recibir el pertinente tratamiento (adalimumab o esteroides según el grupo) ya fuese al mes (t_1) o a los 6 meses (t_2), como puede apreciarse en la tabla 10.

4.2.2. Citoquinas.

4.2.2.1 IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF α .

Se incluyeron en este estudio, para su análisis, los niveles séricos de diversas citoquinas que por una u otra razón se habían demostrado relevantes en la génesis y/o perpetuación (ya fuese desde una perspectiva pro-inflamatoria o inhibitoria de la inflamación) de las uveítis.

Tabla 9: Efecto del tratamiento sobre los niveles séricos de reactantes de fase aguda.

	Grupo tratado con adalimumab					Grupo tratado con esteroides		
	t_0^*	t_1	T_2	P (t_0-t_1)**	P (t_1-t_2)**	t_0^*	t_1	P (t_0-t_1)**
PCR	2.1 (4.08)	1.15 (2.2)	1 (0.59)	p=0.398	p=1	1.83 (8.55)	1.3 (5.33)	p=ns
SAA	3.85 (4.55)	2.8 (3.8)	2.25 (8.53)	p= 0.306	p= 0.638	5.5 (12.8)	4.4 (5.55)	p=ns

PCR: Proteína C reactiva; SAA: Amiloide sérico A.

Los resultados son medianas expresadas en pg/ml con su rango intercuartílico. Los valores por debajo de 1 pg/ml se consideraron inferiores al límite de detección.

- p t_0 adalimumab vs. t_0 steroids = Resultó no significativo (Mann-Whitney, datos no mostrados);
- **p, muestras apareadas (Wilcoxon).

Se comprobó que, a nivel basal (a t_0), los pacientes con uveítis presentaban niveles elevados de algunas citoquinas al compararlos con los controles sanos. En concreto, entre los 22 pacientes con uveítis, se observaban niveles elevados de IL-1 β (p= 0.006), IL-6 (p= 0.004), IL-10 (p= 0.01), TNF α (p=0.008) e IL-12 (p=0.003).

Dado que 12 de estos pacientes se seleccionaron ulteriormente para ser tratados con adalimumab o esteroides, se efectuó un análisis para determinar un posible sesgo de selección relacionado con los niveles de citoquinas. Sin embargo no existían diferencias basales (a t_0) entre los pacientes con uveítis que luego serían tratados con adalimumab y aquellos que lo serían con esteroides

Tras 1 mes de tratamiento (a t_1), se volvieron a analizar los niveles de todas las citoquinas y a compararlos entre los dos grupos de pacientes tratados. En el grupo de adalimumab, las medianas de nivel sérico de IL-6 (21.56 vs 17.41 pg/ml, p= 0.047), e IL-12p70 (20.30 vs 14.65 pg/ml, p=0.021), habían descendido significativamente si se comparaban con los valores basales (a t_0) como puede observarse en la Tabla x.

Tras 6 meses de tratamiento (a t_2), la mediana de niveles séricos de IL-12p70 había descendido aún más al compararla con t_1 (14.65 pg/ml vs 1, p= 0.037). Sin embargo, IL-6 permanecía a niveles similares al compararla con los niveles basales. Finalmente, la mediana de niveles séricos de IL-10 (14.02 pg/ml vs 1, p=0.012) estaba ahora significativamente descendida al compararla con los niveles basales. No observamos cambios significativos en las otras citoquinas analizadas (IL-1 β , IL-17A y TNF α) durante el estudio. Tratando de establecer si existía una correlación entre las citoquinas modificadas por adalimumab, sólo observamos una correlación directa entre IL-6 e IL-12 a t_0 y t_1 (Pearson ρ = 0.90, p< 0.0001 y ρ =0.94, p<0.0001), pero no a t_2 (Pearson ρ =0.28). La Tabla x muestra medianas de niveles para cada una de las citoquinas mencionadas en los 3 momentos (t_0 , t_1 , t_2) del estudio.

Tabla 10: Efecto del tratamiento sobre los niveles séricos de diversas citoquinas.

	Grupo tratado con adalimumab					Grupo tratado con esteroides		
	<i>t0</i> *	<i>t1</i>	<i>T2</i>	<i>P</i> (<i>t0-t1</i>)**	<i>P</i> (<i>t1-t2</i>)**	<i>t0</i> *	<i>t1</i>	<i>P</i> (<i>t0-t1</i>)**
IL-1β	22.97 (30.44)	25.83 (31.06)	28.16 (31.64)	p= 0.678	p= 0.333	24.30 (3.11)	24.11 (6.36)	p=ns
IL-6	21.56 (42.68)	17.41 (40.48)	4.42 (14.42)	p=0.047	p=0.445	24.77 (20.12)	29.90 (11.54)	p=ns
IL-10	14.02 (24.50)	12.46 (21.85)	1 (1)	p= 0.110	p=0.012	19,01 (6.64)	18.32 (9.07)	p=ns
IL-12p70	20.30 (57.77)	14.65 (36.25)	1 (5.29)	p=0.021	p=0.037	18.03 (15.02)	20.06 (11.84)	p=ns
IL-17A	5.6 (3.17)	5.29 (3.1)	5.13 (3.36)	p= 0.117	P= 0.937	5.36 (3.47)	5.83 (3.13)	p=ns
TNF-α	10.14 (13.41)	9.83 (12.66)	1 (5.94)	p= 0.263	p= 0.173	12.81 (5.65)	12.22 (4.05)	p=ns

Los resultados son medianas expresadas en pg/ml con su rango intercuartílico. Los valores por debajo de 1 pg/ml se consideraron inferiores al límite de detección.

* p *t0* adalimumab vs. *t0* steroids = Resultó no significativo (Mann-Whitney, datos no mostrados); **p, muestras apareadas (Wilcoxon).

Para dilucidar si los efectos observados eran específicos del tratamiento con adalimumab, los comparamos con aquellos niveles obtenidos en las muestras de pacientes con uveítis tratados con esteroides. Como puede observarse en la Tabla 10, los pacientes tratados con esteroides no demostraron cambios significativos en los niveles séricos de ninguna citoquina a *t*₁. Por lo tanto concluimos que los resultados observados al mes de tratamiento son específicos del adalimumab. Dada la ausencia de muestras del grupo tratado con esteroides a *t*₂, no podemos inferir la misma conclusión para los resultados obtenidos a los 6 meses de tratamiento.

4.2.2.2 IL-22.

En este trabajo también decidimos estudiar el papel de una citoquina cuya relación con las uveítis ha sido escasamente estudiada como es IL-22.

A nivel basal (a *t*₀), los pacientes con uveítis (fuera cual fuese su grupo de tratamiento posterior) presentaban una mediana de niveles séricos de IL22 incrementada respecto al grupo de controles sanos (*p* < 0.001). Además, y si analizamos los valores individuales, IL-22 era la única citoquina, de todas las analizadas en esta tesis, elevada en todos y cada uno de los pacientes del estudio. Como con el resto de citoquinas, descartamos un posible sesgo de selección en función de los niveles de citoquinas al comparar los

niveles de IL-22 en los pacientes de cada uno de los grupos de pacientes (adalimumab y esteroides) y comprobar que no existían diferencias significativas.

Tras un mes de tratamiento (a t_1), la mediana de niveles séricos de IL-22 había descendido pero sin alcanzar valores estadísticamente significativos al compararla con la basal (16.73 pg/ml vs 10.29, $p=0.084$).

Tras 6 meses de tratamiento (a t_2), la mediana de niveles séricos de IL-22 había descendido significativamente al compararla con los niveles basales (16.73 vs 8.57, $p=0.041$).

Tabla 11: Efecto del tratamiento con adalimumab o esteroides sobre IL-22.

	Grupo tratado con Adalimumab					Grupo tratado con esteroides		
	t_0^*	t_1	t_2	P (t_0-t_1)**	P (t_1-t_2)**	t_0^*	t_1	P (t_0-t_1)**
IL-22	16.73 (8.63)	10.29 (9.35)	8.57 (9.81)	$p=0.084$	$p=0.109$	16 (11.68)	12.97 (2.37)	$p=ns$

Los resultados son medianas expresadas en pg/ml con su rango intercuartílico. Los valores por debajo de 1 pg/ml se consideraron inferiores al límite de detección.

* p t_0 adalimumab vs. t_0 steroids = Resultó no significativo (Mann-Whitney, datos no mostrados); ** p , muestras apareadas (Wilcoxon).

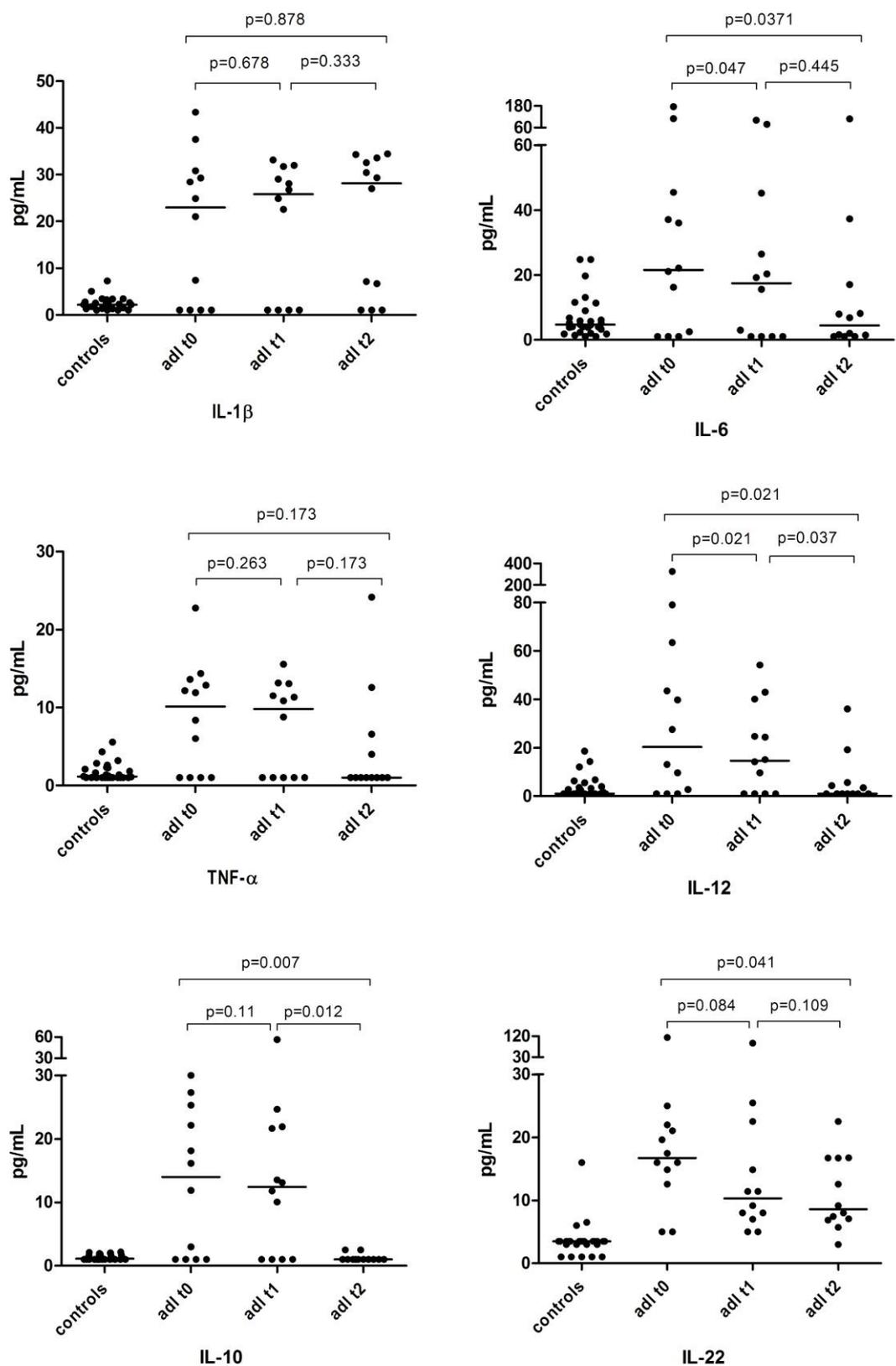


Figura 12. Niveles de diversas citoquinas en el grupo de pacientes tratados con adalimumab (adl) en los distintos momentos del estudio.

4.2.2.3. Vascular endothelial growth factor (VEGF).

Como ya se ha comentado con anterioridad, VEGF es una citoquina proinflamatoria que ha sido implicada en la patogénesis de las uveítis en general, y del edema macular en particular. Sin embargo, raramente se estudian sus niveles en sangre, y por tanto existen pocos datos sobre su papel en uveítis.

A nivel basal (a t_0), los pacientes con uveítis (fuera cual fuese su grupo de tratamiento posterior) presentaban una mediana de niveles séricos de VEGF similar a la de los controles sanos (78.18 and 102.45 pg/ml, respectivamente, $P=0.077$). Además no se observaban diferencias significativas en las medianas de niveles séricos basales de los dos grupos (el tratado con adalimumab y el tratado con esteroides) de pacientes con uveítis (68.37 and 75.04 pg/ml, respectivamente, $P=0.792$).

Tras un mes de tratamiento (a t_1), la mediana de niveles séricos de VEGF descendió en el grupo de pacientes tratados con adalimumab. De hecho, todos ellos menos el paciente 6 presentaron un descenso en los niveles séricos de esta citoquina en ese momento del estudio. Como puede observarse en la Tabla 12, la mediana de niveles séricos de VEGF continuó descendiendo también a los 6 meses de tratamiento (a t_2). Sin embargo este efecto no se observó en los pacientes con uveítis tratados con esteroides.

Tabla 12: Efecto del tratamiento con adalimumab o esteroides sistémicos sobre los niveles de VEGF.

	Grupo tratado con Adalimumab					Grupo tratado con esteroides		
	t_0^*	t_1	t_2	P (t_0 - t_1)**	P (t_1 - t_2)**	t_0^*	t_1	P (t_0 - t_1)**
VEGF	68.37 (101.26)	46.68 (61.29)	37.88 (52.91)	p= 0.034	p= 0.041	75.04 (23.82)	76.67 (25.21)	p=ns

Los resultados son medianas expresadas en pg/ml con su rango intercuartílico. Los valores por debajo de 1 pg/ml se consideraron inferiores al límite de detección.

* p t_0 adalimumab vs. t_0 steroids = Resultó no significativo (Mann-Whitney, datos no mostrados); **p, muestras apareadas (Wilcoxon).

4.2.3 Quimioquinas.

En este trabajo también decidimos estudiar el papel de varias quimioquinas cuya relación con las uveítis ha sido escasamente estudiada como son la monoquina inducida

por interferon- γ (MIG), la proteína 10 inducible por interferon (IP-10), y la proteína-1 quimioattractante de monocitos (MCP-1).

A nivel basal (a t_0), los pacientes con uveítis (fuera cual fuese su grupo de tratamiento posterior) presentaban una mediana de niveles séricos de MCP-1, IP-10 y MIG similar respecto al grupo de controles sanos, y a su vez los niveles de ambos grupos de pacientes con uveítis (grupo adalimumab y grupo esteroides) no presentaban diferencias significativas en los niveles de todas ellas, descartando así un posible sesgo de selección en relación a los niveles de quimioquinas.

Tras un mes de tratamiento (a t_1), la mediana de niveles séricos de MIG había descendido pero sin alcanzar valores estadísticamente significativos al compararla con la basal (152.49 pg/ml vs 69.09, $p=0.05$). Tras 6 meses de tratamiento (a t_2), la mediana de niveles séricos de MIG había descendido significativamente al compararla con los niveles basales (152.49 vs 63.86, $p= 0.01$). En el resto de quimioquinas, las variaciones entre los distintos momentos de estudio no fueron significativas.

Tabla 13: Efecto del tratamiento con adalimumab o esteroides sistémicos sobre los niveles de diversas quimioquinas.

Quimioquina	Grupo Adalimumab t_0	Grupo Adalimumab t_1	Grupo Adalimumab t_2	Grupo Adalimumab t_0-t_1 ***	Grupo Adalimumab t_0-t_2 ***	Grupo Esteroides t_0 *	Grupo Esteroides t_1 **
MCP-1	174.2 (147.49)	181.5 (155.3)	124.54 (166.31)	P=ns 0.534	P=ns 0.075	163.61 (149.60)	194.46 (183.52)
IP-10	155.71 (187.47)	178.15 (173.75)	141.39 (178.98)	P=ns 0.388	P=ns 0.239	98.46 (126.01)	125.4 (88.21)
MIG	152.49 (118.58)	69.09 (248.13)	63.86 (121.99)	P=ns 0.050	P=0.010	77.28 (186.47)	85.65 (59.93)

Resultados expresados como medianas en pg/ml and con su respectivo rango intercuartílico. Los valores menores de 1 pg/ml se han considerado por debajo del límite de detección.

*p Grupo Adalimumab t_0 - Grupo Esteroides t_0 = No significativo para todas las quimioquinas (Mann-Whitney);

** p Grupo Esteroides t_0 – Grupo Esteroides t_1 = No significativo para todas las quimioquinas (Wilcoxon)

***p en comparativo dentro del Grupo Adalimumab entre los distintos tiempos(Wilcoxon)

4.2.4. Correlación clínica de los efectos inmunomoduladores observados.

Para analizar si los cambios en los niveles de citoquinas inducidos por adalimumab estaban o no asociados a la actividad clínica de las uveítis, y por un motivo meramente estadístico para poder realizar el análisis, clasificamos clínicamente a los pacientes tratados con adalimumab en *activos* (grado 2), que era el nivel basal de actividad de todos los pacientes, *parcialmente activos* (grado 1), que comprendía a todos los pacientes que habían experimentado una mejoría (definida en el punto 3.3.5.) pero en los que persistía algún signo de actividad, y *completamente inactivos* (grado 0), que comprendía a todos aquellos pacientes con uveítis inactiva (según definición del punto 3.3.5.).

Pues bien, las medianas de los valores séricos de las citoquinas en los tres diferentes momentos de análisis del estudio (t_0 , t_1 , t_2) fueron relacionadas con los distintos grados de actividad (2, 1, 0) antes mencionados. A pesar de una clara tendencia hacia bajos niveles de IL-6 e IL-12 a medida que la actividad de la enfermedad iba reduciéndose, sólo se alcanzaron niveles de correlación clínicamente significativos con IL-22 ($p=0.011$, Kruskal-Wallis). Sin embargo, y dado que la variabilidad de niveles séricos interindividual podría influir en que las medianas no fuesen un valor apropiado para encontrar una verdadera asociación, también utilizamos el modelo general lineal de medidas repetidas. De nuevo, sólo encontramos correlación entre el índice de actividad de la uveítis y los valores de IL-22. En un análisis intra-individuos, los niveles de IL-22 no correlacionaron con la actividad de la enfermedad en los pacientes 6 y 9. También es interesante que tras 6 meses de tratamiento, IL-22 no volviera a los niveles encontrados en los controles no enfermos en la mayor parte de los pacientes.

Por lo que se refiere al VEGF, y a pesar de que el descenso de esta citoquina se produjo en casi todos los pacientes tanto en t_1 como en t_2 , la correlación clínica entre el descenso de VEGF y la mejoría clínica sólo se observó en la mitad (6) de los pacientes tratados con adalimumab.

4.3. Resultados inmunológicos (II): Efecto del adalimumab sobre la respuesta inmune adaptativa.

4.3.1. Poblaciones de Linfocitos T.: CD4, CD8, Linfocitos T activados.

Buscando posibles efectos sobre la respuesta inmune adaptativa se fenotiparon los linfocitos de sangre periférica de todos los pacientes incluidos (grupo tratado con

adalimumab) a t_0 , t_1 y t_2 , y de los controles con uveítis (grupo tratado con esteroides) a t_0 y t_1 . No encontramos diferencias basales (a t_0) en la población total de linfocitos T ni en las poblaciones relativas de CD4 y CD8 entre el grupo tratado con adalimumab y el grupo tratado con esteroides. Tampoco se observaron diferencias tras un mes (a t_1) de inicio del tratamiento. Se realizó además un análisis detallado de las posibles diferencias en las poblaciones de linfocitos T CD3, CD4 y CD25 (T-activados) que puede observarse en la tabla 14. Los pacientes del grupo de esteroides, pero no aquellos del grupo de adalimumab, presentaban una reducción significativa de la mediana de la población total de linfocitos T CD25 (CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺), después de un mes de tratamiento (a t_1) con $p=0.028$. Además exploramos las posibles diferencias existentes en aquellos linfocitos T CD25 que expresaban Foxp3 (CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺). Ambos grupos de pacientes (tanto los tratados con adalimumab como aquellos tratados con esteroides) presentaban una reducción significativa de esta subpoblación linfocitaria. La tabla 14 muestra los niveles de diversas subpoblaciones linfocitarias, de ambos grupos de pacientes, en los diferentes momentos del estudio.

4.3.2. Linfocitos T-reguladores.

Para explorar de forma específica los posibles cambios en la población de linfocitos T-reguladores (T-regs), restringimos el análisis a aquellos linfocitos CD4⁺ que expresaban la mayor cantidad de CD25^{high} en su superficie y que simultáneamente co-expresaban Foxp3, y, al tiempo, no expresaban CD127. La mediana basal de niveles de T-regs en el grupo de pacientes tratados con adalimumab no difería del grupo tratado con esteroides ($p=0.57$) ni del grupo de controles sanos ($p=0.35$). Tras un mes de tratamiento con adalimumab (a t_1), es decir, de dos infusiones del fármaco, la mediana de los niveles de T-regs se había incrementado significativamente sobre los niveles basales (a t_0 , $p=0.003$), y permaneció elevada tras 6 meses de tratamiento (a t_2 , $p=0.003$), equivalentes a unas 12-13 infusiones de adalimumab. Sin embargo no se observó ningún efecto en los niveles de población de T-regs en los pacientes del grupo de esteroides ($p=0.67$). La tabla 14 muestra los niveles en la población de T-regs de ambos grupos de pacientes en los diferentes momentos del estudio. La figura 13 muestra los niveles de T-regs correspondientes a un paciente representativo de ambos grupos antes (t_0) y después (t_1) del tratamiento. La figura 14 muestra los porcentajes de T-regs de todos los pacientes incluidos en los diferentes momentos del estudio.

Población de linfocitos	Grupo de pacientes tratados con adalimumab (n=12)					Grupo de pacientes tratados con esteroides (n=10)		
	t0	t1	t2	P		t0	t1	P (t0-t1)
				(t0-t1)	(t0-t2)			
CD3 CD4 CD25	4.04 (2.48–8.48)	2.73 (1.96–7.28)	2.93 (1.12–14.64)	0.239	0.108	4.03 (1.54–5.61)	3.48 (1.21–4.88)	0.028
CD3 CD4 CD25 Foxp3	2.37 (0.80–4.36)	1.98 (0.77–3.59)	2.02 (0.85–3.42)	0.084	0.023	2.7 (1.02–4.46)	2.04 (1.12–3.52)	0.032
CD3 CD4 CD25 ^{high} Foxp3	0.8 (0.38–3.80)	1.6 (0.60–4.0)	1.69 (0.50–3.90)	0.003	0.003	1.01 (0.59–5.53)	1.12 (0.59–2.0)	0.799

Los valores de P se refieren a las diferencias entre la variación en los tiempos específicos: t0 = Pretratamiento; t1 = Al mes de tratamiento; t2: Tras 6 meses de tratamiento. Los resultados son valores porcentuales de la mediana siempre referidos a CD4.

Tabla 14. Niveles de diversas subpoblaciones linfocitarias, de ambos grupos de pacientes, en los diferentes momentos del estudio.

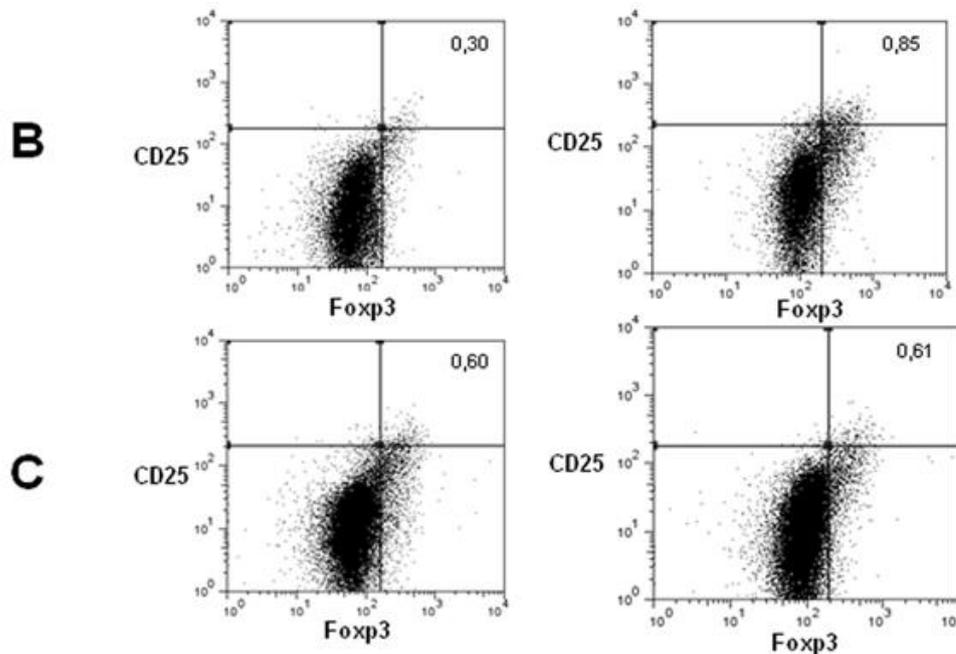


Figura 13. Imágenes de citometría de flujo. Niveles de T-regs correspondientes a un paciente representativo del grupo tratado con adalimumab (B), y otro del grupo tratado con esteroides (C), antes (t0, imágenes de la izquierda) y después (t1, imágenes de la derecha) del tratamiento.

4.3.3. Correlación clínica de los efectos inmunomoduladores observados.

Dado que los efectos observados sobre la población de linfocitos T-regs eran aparentemente específicos del uso de adalimumab, estudiamos si estos efectos podían o no tener una correlación con la evolución clínica de los pacientes incluidos en el estudio. Se observó una importante variabilidad en los niveles de T-regs entre los controles sanos y también entre los pacientes (de ambos grupos) a t_0 . En un análisis intraindividuos a diferentes tiempos, la elevación de los niveles de T-regs correlacionaba con el control inflamatorio, excepto en los pacientes 1, 3 y 6 que (cuyos diagnósticos de base pueden verse en la tabla x de la sección 3.2.2.). En estos tres pacientes, y aunque los niveles de T-regs se habían elevado con una mejoría clínica asociada evidente a t_1 , se necesitó un tratamiento con adalimumab más prolongado para conseguir la remisión clínica. Los pacientes 4 y 9, que como se especificaba en el punto 4.1.1., sufrieron una recaída/rebote de su uveítis, sufrieron además un claro y significativo descenso en el nivel de T-regs coincidiendo con dicho rebote.

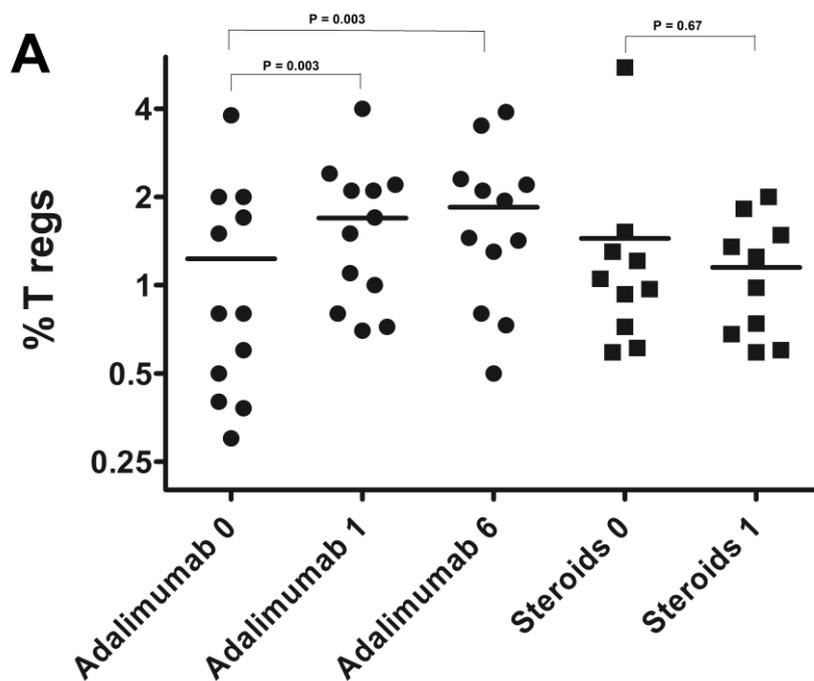


Figura 14. Porcentajes de T-regs en los pacientes del grupo de adalimumab y del grupo de esteroides, en los distintos momentos del estudio.

5- DISCUSIÓN.

La aparición de fármacos biológicos ha supuesto una verdadera revolución en el manejo de las enfermedades inmunomediadas. En concreto, los agentes anti-TNF han supuesto un indudable avance en el control de estas enfermedades. En el caso de las uveítis, la experiencia publicada por diversos grupos, a pesar de tratarse en su mayoría de series de casos retrospectivas, ha sido esperanzadora y ha supuesto un cambio en la forma de orientar el manejo terapéutico de estos pacientes. En este estudio se ha pretendido evaluar el efecto de una agente anti-TNF, adalimumab, sobre un grupo de pacientes con uveítis inmunomediadas desde una doble perspectiva: clínica e inmunológica.

Desde el punto de vista clínico, el tratamiento subcutáneo con 40 mg de adalimumab cada 14 días demostró ser eficaz en el control de uveítis no-infecciosas inmunomediadas que han sido refractarias a tratamiento convencional con esteroides y/u otros inmunosupresores tradicionales. Adalimumab logró el control completo de la inflamación (“uveítis inactiva”) en todos ellos, si bien un 25% de los pacientes sufrieron algún tipo de recaída en ese periodo. Además los criterios seguidos para evaluar ese control han sido especialmente exigentes dado que no sólo se incluían los clásicamente utilizados, y recientemente avalados por el grupo SUN,³ criterios de inactividad de la inflamación en cámara anterior y cavidad vítrea, sino también la ausencia de signos inflamatorios en OCT y AFG.

Resulta importante destacar algunos aspectos de la historia natural de las uveítis para poder contextualizar mejor estos resultados. La uveítis, como otras enfermedades autoinmunes, asocia una importante morbilidad que habitualmente no viene determinada por un solo episodio de inflamación, sino por episodios recurrentes que generan un daño acumulativo, si bien es cierto que algunos pacientes con uveítis especialmente agresivas (como por ejemplo los pacientes con uveítis asociadas a enfermedad de Behçet, o a AIJ, entidades presentes entre los pacientes de nuestro estudio) pueden desarrollar complicaciones tremendamente invalidantes desde el comienzo. Como se explicaba en la introducción, aproximadamente un tercio de los pacientes con uveítis sufrirá grave deterioro de su agudeza visual y/o ceguera legal debido a su enfermedad,⁴³ y las posibilidades de formar parte de ese grupo de pacientes con secuelas visuales invalidantes es tanto mayor cuantos más brotes y mayor tiempo con enfermedad activa presente el paciente en cuestión.⁷¹ Los pacientes incluidos en este estudio eran pacientes con uveítis crónicas, refractarias a tratamiento convencional, con alto índice de complicaciones (como el edema macular presente en el 41% de los pacientes), y con grave afectación de la agudeza visual. Es decir, eran pacientes

tremendamente complicados y con cada vez más limitadas opciones terapéuticas y pronósticos menos halagüeños. Por eso estos resultados son especialmente esperanzadores, dado que son este tipo de pacientes los que suponen un mayor reto terapéutico en la mayor parte de las unidades de uveítis nacionales y extranjeras.

Además, adalimumab demuestra ser una terapia bien tolerada y con escasos efectos secundarios remarcables que, de hecho, permitió ser continuada durante los 6 meses del periodo de seguimiento del estudio en todos los pacientes.

El efecto de control inflamatorio de las uveítis de adalimumab es compartido con los corticoides como lo demuestra el hecho de que el grupo de pacientes con uveítis en los que se eligió la terapia sistémica con prednisona, también se controló. Sin embargo, los corticoides, no se recomiendan como tratamiento prolongado de los pacientes con uveítis clínicamente significativas por sus efectos secundarios, que ya han sido suficientemente especificados con anterioridad. Pero además, y como ha podido ponerse de relieve en los resultados anteriormente expuestos, los corticoides carecen de un efecto más allá del meramente antiinflamatorio. Es decir su efecto sobre el sistema inmune se limita al periodo en que se usan, inhibiendo la cascada inflamatoria, pero no debe esperarse un efecto “modulador” de la respuesta inmune que pueda hacer pensar en poder conseguir si no la curación, sí al menos una remisión (control inflamatorio sin tratamiento) prolongada en el tiempo más allá de su uso. En este sentido, los resultados obtenidos sugieren que adalimumab sí podría tener ese potencial.

Por lo que se refiere a las modificaciones observadas en los biomarcadores de inflamación, encontramos una situación pre-tratamiento con perfiles de citoquinas en el grupo de pacientes, y no en el de controles, caracterizada por un aumento en los niveles basales de IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IL-12, e IL-22. Conviene destacar, como ya se apuntó con anterioridad, que desconocemos si existía una variación en los niveles de VEGF dado que se carecía de niveles de referencia por ser una citoquina rara vez tenida en cuenta en controles analíticos. Pero además comprobamos como los pacientes asignados al grupo de tratamiento con adalimumab experimentaron cambios notables en dichos perfiles que estaban claramente relacionados además con el tiempo de tratamiento.

Tras el tratamiento con adalimumab, pudimos observar cómo tanto VEGF, como las citoquinas proinflamatorias IL-6 e IL-12, experimentaron disminuciones precoces.

Después de las dos primeras inyecciones los niveles séricos disminuyeron y permanecieron bajos durante todo el periodo de seguimiento. Los niveles de IL-22 también mostraron una clara tendencia a la baja, pero esta disminución no alcanzaba significación estadística, lo que quizás pudiera ser atribuible al tamaño muestral. Sin embargo IL-22, y también la inmunoreguladora IL-10, experimentaron descensos ya estadísticamente significativos a los 6 meses de tratamiento. Ninguno de todos estos efectos observados en el grupo de pacientes tratados con adalimumab se apreció en el grupo de pacientes tratados con esteroides ni en el de los controles sanos, por lo que se consideraron específicos del tratamiento.

En cuanto a por qué elegimos la medida de VEGF como parte de este estudio, conviene resaltar que la inflamación y la angiogénesis están estrechamente relacionadas. Así se reconoce al TNF- α como una de las citoquinas pro-inflamatorias que induce aumentos en la producción de VEGF en las células endoteliales coroideas, y por lo tanto promueve la neovascularización y el edema macular.^{308, 309} De hecho el tratamiento con fármacos anti-TNF- α se ha demostrado eficaz, al menos en estudios preliminares, en el manejo de diversas entidades como la DMAE exudativa,³¹⁰ el modelo murino de neovascularización inducida por láser³¹¹ y el edema macular cistoide.²⁶⁷ Aunque este efecto de reducción del VEGF descrito en este estudio es novedoso en lo referente a pacientes con uveítis, también ha sido descrito en pacientes que recibían tratamiento con infliximab, otro agente anti-TNF- α para otras entidades inmunomediadas tales como psoriasis, artritis reumatoide o espondilitis anquilopoyética, en los que se observaron reducciones en los niveles séricos de VEGF, que además correlacionaban con el control inflamatorio de la enfermedad de base.³¹²⁻³¹⁴ Por todo ello elegimos VEGF como uno de los marcadores del efecto inmunomodulador y antiinflamatorio de adalimumab en nuestra serie de pacientes con uveítis refractarias a tratamiento convencional. Esta citoquina se redujo de forma consistente en 11/12 pacientes del grupo que recibió tratamiento con adalimumab, efecto que no se observó en el grupo tratado con esteroides. El paciente en el que VEGF no descendió presentaba una panuveítis secundaria a LES, reconocida como claro ejemplo de enfermedad refractaria al tratamiento con agentes anti-TNF- α . En definitiva, este hallazgo supone extender a los pacientes con uveítis un efecto previamente descrito en otras enfermedades autoinmunes, pero en este caso de especial importancia por el crucial efecto que a VEGF se le ha otorgado en la patogénesis de las uveítis en general³¹⁵ y del edema

macular uveítico en particular.³¹⁶ No obstante, y dado que el tamaño muestral es reducido, serán necesarios estudios randomizados incluyendo un mayor número de pacientes para poder determinar si este efecto es suficientemente relevante en la clínica tal y como sugieren estos resultados.

Al evaluar los efectos del tratamiento sobre los niveles de las principales citoquinas implicadas, de una u otra manera, en la etiopatogénesis de las uveítis, sorprende que TNF α , IL-1 β e IL-17A, que son algunas de las consideradas como principales citoquinas pro-inflamatorias/patogénicas, no experimentaron descensos significativos a lo largo del estudio como sería esperable, a pesar de la clara eficacia clínica demostrada por el adalimumab. El bajo nivel basal de todas ellas podría ser una explicación para este fenómeno. En esta línea, cabría pensar que quizás el papel etiopatogénico de esas citoquinas sea ejercido fundamentalmente a nivel local, intraocular, y que los valores séricos de citoquinas no reflejen los valores intraoculares, compartiendo, la terapia con adalimumab, un mecanismo de acción sistémico con otro intraocular. De hecho, esta falta de correlación entre los niveles séricos de TNF α (ausencia de descenso en dichos niveles) y la mejoría clínica inducida por el tratamiento con diversos agentes inhibidores de esa citoquina, ya ha sido previamente descrita.³¹⁷⁻³¹⁹ En todo caso, cabe destacar la ausencia de determinación de citoquinas a nivel local como una de las limitaciones de este estudio, y que se explica por las implicaciones éticas y médico-legales que tal intervención (toma de fluidos intraoculares de manera repetida durante el periodo de seguimiento) plantearía.

Por lo que se refiere a los hallazgos IL-22, éstos parecen especialmente interesantes. En primer lugar, IL-22 era la única citoquina elevada respecto al grupo de controles en todos y cada uno de los pacientes antes del tratamiento. Además, la mejoría clínica de la uveítis se correlacionó estrecha y específicamente con el descenso en los niveles de esta citoquina en 10/12 pacientes tratados con adalimumab, apuntando la potencial relevancia que la monitorización seriada de los niveles de esta citoquina podría tener en los pacientes con uveítis activas a partir de este trabajo. De hecho, los pacientes en los que no se producía esta correlación eran una pacientes con LES, que como ya se ha apuntado, es una enfermedad en la que los agentes anti-TNF α tienen un papel limitado, y otro paciente con AIJ (paciente 9) que presentaba clara actividad sistémica de su enfermedad de base. Aunque la presencia de niveles elevados de IL-22 ya se había descrito previamente en enfermedades mediadas por TH17 como la psoriasis³²⁰ y la artritis reumatoide,³²¹ este es el primer trabajo que describe niveles séricos elevados de

IL-22 en pacientes con uveítis. De hecho el posible papel patogénico de IL-22 en las uveítis no ha sido estudiado en profundidad. Recientemente se ha publicado que IL-22 puede tener un papel protector en el modelo de EAU.³²² En uveítis humanas, Li et al. describieron un perfil de expresión aumentado de los genes que codifican IL-22 en una muestra heterogénea (similar a la de nuestro estudio) de uveítis inmuno-mediadas.³²³ También demostraban que IL-22 podría inducir apoptosis de las células del EPR *in vitro*. Dado que las células del EPR son componentes principales de la barrera hematorretiniana, estos autores proponen que el daño inducido sobre el EPR por IL-22 podría contribuir de forma decisiva sobre la patogenia de las uveítis que afectan al segmento posterior al abrir dicha barrera para la entrada de linfocitos autorreactivos Th1 y Th17 en el ojo. Sin embargo, en nuestro trabajo no encontramos correlación entre los niveles de IL-22 y los de otras citoquinas también implicadas en la rotura de la barrera hematorretiniana (TNF α , IL-1 β , VEGF), ni tampoco con los niveles de SAA, biomarcador de inflamación cuyos niveles se suelen correlacionar directamente con los de IL-22.³²⁴ En definitiva, no podemos esclarecer, en base a los datos de los que disponemos, qué relevancia puede tener la elevación de IL-22 en los pacientes con uveítis. Estudios futuros a partir de los resultados de esta tesis podrían profundizar en el significado y las implicaciones de este biomarcador.

Estos resultados invitan a pensar además en el potencial de IL-22 como biomarcador de actividad de la enfermedad. En esta línea, un trabajo reciente relaciona los niveles séricos de esta citoquina con la actividad de la enfermedad en pacientes con enfermedad de Behçet.³²⁵ Los autores observan niveles aumentados de esta citoquina, y de linfocitos T CD4+ productores de IL-22 (que podrían ser una línea de diferenciación distinta de los Th1, Th2 o Th17) en pacientes que presentan índices de actividad superiores, y concretamente en aquellos que presentaban uveítis activas. Más reciente aún, otro trabajo no sólo corrobora el papel fundamental de la IL-22 en el contexto de uveítis asociada a Behçet, sino que además apunta, en la línea de los resultados que obtenemos en nuestro trabajo, que el tratamiento con fármacos anti-TNF, en este caso infliximab, inhibe la producción de esta citoquina.³²⁶ Nuestro estudio es el único que, por el momento, extrapola estos resultados a pacientes con uveítis no-infecciosas fuera del contexto de la enfermedad de Behçet, y sugiere la posibilidad de que los niveles séricos de esta citoquina pudieran servir para monitorizar cuándo los pacientes con uveítis que reciben tratamiento con agentes anti-TNF podrían discontinuar el

tratamiento. O a la inversa, cuándo intensificar el tratamiento con anti-TNF de estos pacientes.

En la respuesta inmune celular, no se observaron cambios significativos sobre la población de linfocitos T totales ni sobre ninguna de sus dos principales subpoblaciones, CD4+ y CD8+, producidos por ninguno de los dos tratamientos a estudio. Al analizar los posibles efectos sobre los linfocitos T activados (CD25+), se observó como el grupo de pacientes tratados con esteroides, y no así el de aquellos tratados con adalimumab, experimentaron un descenso significativo. Sin embargo, tanto adalimumab como la prednisona produjeron una reducción de linfocitos T (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺), que además de incluir los T-regs, incluye, sobre todo, linfocitos T de memoria y activados.³²⁷ Hay que señalar que es posible que algunos de estos linfocitos T CD4⁺ CD25⁺ no sean verdaderos T-regs, y que puedan co-expresar transitoriamente FoxP3⁺ tras la activación, complicando así la distinción entre los linfocitos T CD4⁺ activados y las T-regs.³²⁸ Esto podría explicar varios trabajos con resultados aparentemente contradictorios en lo referido a la cuantificación de T-regs.³²⁹ Para evitar posibles confusiones al definir la población de T-regs sobre la que centramos el estudio, y en línea con lo sugerido por la literatura científica reciente, consideramos como T-regs sólo aquellos linfocitos T CD4⁺ que expresaban CD25 en niveles altos (CD25^{+High}) y que además no expresaban CD127 (CD 127⁻), por ser este último un marcador de linfocitos activados. Resulta esencial destacar que cuando en nuestro trabajo restringimos el análisis a la población CD25^{+High} que co-expresaba FoxP3⁺ y no expresaba CD127, características que se han reportado como marcadores más específicos de T-regs,³³⁰ surgían diferencias mucho más ostensibles en los efectos producidos por ambos tratamientos.

Cabe destacar, antes de otras aseveraciones, que los niveles medios de T-regs no diferían entre el grupo de pacientes antes de tratamiento (n=22) y los controles. Esto quiere decir que, según nuestros resultados, el número de Tregs no parece jugar un papel relevante en el inicio de la enfermedad. No obstante, hay que ser cauto en la interpretación de estos resultados dado que se observaron importantes diferencias interindividuales, tanto en pacientes con uveítis como pacientes controles. También es muy importante el hecho de que en nuestro trabajo se analizó un posible sesgo de selección al comprobar que los niveles de T-regs no diferían dentro de los dos grupos de pacientes que se asignaron a uno (adalimumab) u otro tratamiento (esteroides).

Finalmente, adalimumab demostró un significativo aumento de T-regs en el 100% de los pacientes tratados con dicho agente (12/12), que no se observó en los pacientes tratados con esteroides. Este efecto de aumento de T-regs naturales o periféricas-inducidas, y en base a todo lo anteriormente expuesto más el hecho de la gran heterogeneidad de los pacientes incluidos en el grupo tratado con adalimumab, se consideró específico del tratamiento con dicho agente.

Por otro lado, y en contra de otros trabajos documentando incrementos en los niveles de T-regs inducidos por otros agentes inhibidores del TNF- α como el infliximab,³³¹ el efecto de aumento de las T-regs en nuestro estudio no se correlacionó con una reducción en los reactantes de fase aguda e inactividad de la enfermedad de base, por lo que este efecto, consideramos, no es sólo específico sino también independiente de la enfermedad de base asociada (en aquellos casos en los que lo estaba) a la uveítis.

Sobre las posibles repercusiones o importancia clínica de este hallazgo, la primera pregunta que nos hacemos es si el nivel de T-regs pudiese ser relevante para el control de la enfermedad. En el modelo de EAU, se piensa que los T-regs de formación tímica natural controlan el umbral de susceptibilidad a partir del cual la uveítis tiene lugar, mientras que los T-regs inducidos en la periferia son probablemente responsables del control de la inflamación una vez que esta ya se ha producido.³³² Resulta interesante destacar que, en un trabajo reciente, Sugita et al. señalan que los pacientes con uveítis activas asociadas a Behçet, y no aquellos con uveítis activas secundarias a síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada o a toxoplasmosis, presentan unos valores y funcionalidad de T-regs descendidos, que se incrementan notablemente tras el tratamiento con otro agente anti-TNF- α como es infliximab.²⁷³ En ese trabajo, el incremento de T-regs se asociaba con una remisión y ausencia de nuevos brotes de uveítis. Los resultados que obtuvimos en nuestro trabajo, en lo referente a pacientes con uveítis asociada a Behçet, van en consonancia con el publicado previamente por Sugita et al.²⁷³ En nuestro estudio, con una serie de pacientes mucho más heterogénea, se observaba una asociación entre los incrementos en T-regs y la mejoría clínica a 6 meses en todos y cada uno de los pacientes del grupo tratado con adalimumab, lo que podría reforzar la idea de que los niveles de T-regs podrían hipotéticamente servir para controlar posibles recaídas ulteriores. De hecho, los pacientes que sufrieron una recaída de la enfermedad presentaban descensos en los niveles de T-regs coincidentes con dicha recaída. Sin embargo, la ausencia de correlación clínica al mes de tratamiento en algunos pacientes (pacientes 1,3 y 6) refleja que otros mecanismos reguladores, adicionales a las T-regs,

contribuyen al control de los brotes de uveítis, como por otra parte evidencian los pacientes tratados con esteroides, en los que se produce control de la inflamación sin ese incremento adicional en los niveles de T-regs.

Por lo que se refiere a las limitaciones de este estudio, las dos más evidentes son el limitado número de pacientes incluidos y su gran heterogeneidad. En este sentido, y por carecer de indicación terapéutica aprobada por la agencia responsable, cabe destacar que el uso de agentes anti-TNF α para el tratamiento de las uveítis está considerado como tratamiento compasivo en nuestro país, y por tanto su uso se restringe a aquellos casos en los que fallan los agentes inmunosupresores/inmunomoduladores tradicionales, lo que justifica las dificultades para incluir un mayor número de pacientes y/o la posibilidad de que los pacientes incluidos fuesen más homogéneos. Además, estas restricciones podrían dar lugar a un sesgo en la asignación de pacientes a uno u otro grupo de tratamiento dado que en el grupo de adalimumab se incluyen pacientes con mala evolución, alta tasa de complicaciones, deterioro de la agudeza visual etc. Por otro lado, los efectos observados a los seis meses de tratamiento no pueden ser considerados específicos del adalimumab ya que en el grupo control, de pacientes con uveítis tratadas con esteroides, se carece de muestras de ese momento debido al conflicto ético que supondría mantener el tratamiento con esteroides a pesar de haberse controlado el cuadro inflamatorio.

Con respecto a la heterogeneidad de los pacientes incluidos, parece evidente que este sea un factor que pueda determinar significativamente los resultados del estudio. Sirva como ejemplo el hecho de que en la paciente 6, con panuveítis bilateral secundaria a LES, no se observó correlación clínica entre el tratamiento con adalimumab y las variaciones en los niveles de IL22 ni de VEGF. El LES, una entidad etiopatogénicamente muy diferente a la enfermedad de Behçet y/o a las espondiloartritis, causa un cuadro inflamatorio intraocular muchas veces indistinguible del causado por estas dos entidades. Ese distinto origen puede ser crucial a la hora de entender por qué pacientes con manifestaciones similares responden de forma muy diferente a un mismo tratamiento. En esta línea, poder corroborar los datos obtenidos en una muestra de pacientes más homogénea conferiría sin duda mayor solidez a los resultados obtenidos. Un seguimiento a más largo plazo de los pacientes incluidos hubiese sido, indudablemente, importante para una óptima descripción de los efectos del tratamiento con adalimumab sobre la historia natural de la enfermedad.

Finalmente, ya se ha comentado en esta discusión la ausencia de datos inmunológicos a nivel local (en fluidos oculares) que corroborasen los hallazgos obtenidos en sangre de los pacientes incluidos.

Estos resultados dejan también numerosos interrogantes relacionados con el uso de estas terapias. En primer lugar, y dados los prometedores resultados con los agentes anti-TNF- α , se plantea la cuestión de cuándo empezar con el tratamiento con el biológico, es decir, ¿es necesario probar primero la terapia tradicional y esperar que falle? ¿Cuántos tratamientos de los denominados tradicionales debemos probar antes de comenzar el tratamiento con agentes anti-TNF α ? ¿Podrían darse casos que requieran utilizar estos agentes sin pasar por la terapia tradicional? En principio, parece que no exista una repuesta a estos interrogantes que sea generalizable a todos los pacientes, ya que la actitud terapéutica dependerá de diversas variables que no serán comunes a todos ellos. Por regla general, en los pacientes incluidos en este estudio, hemos probado al menos un inmunosupresor tradicional no esteroideo, siempre en el contexto de un paciente con uveítis clínicamente significativas y que demuestren refractariedad, intolerancia y/o dependencia de los esteroides sistémicos. Por supuesto el tipo de inmunosupresor dependerá del tipo de uveítis y del paciente en cuestión. Así, la Ciclosporina-A sería en principio un buen fármaco, asociado a corticoides, para tratar una panuveítis asociada a un síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, sin embargo preferiríamos utilizar otro en caso de que el paciente tenga una hipertensión arterial conocida o una nefropatía, dado que la ciclosporina puede agravar ambas patologías. Sin embargo, esta forma general de actuar no la seguiríamos en caso de que el paciente presentase una uveítis grave y de mal pronóstico (así, por ejemplo, una uveítis posterior con vasculitis asociadas a una enfermedad de Behçet, o determinados casos, graves, de uveítis asociada a artritis idiopática juvenil con serias complicaciones oculares a la presentación, que en principio tienen mal pronóstico con la terapia tradicional) donde podría ser necesario pautar un agente anti-TNF α sin haber utilizado antes otros agentes inmunosupresores. Por lo tanto, y por regla general, parece recomendable el uso de al menos un inmunosupresor tradicional no esteroideo, por supuesto a una dosis correcta y durante un tiempo mínimo suficiente, antes de plantear la terapia anti-TNF α salvo en casos graves seleccionados, en los que podría estar indicado evitar esa primera etapa con inmunosupresores tradicionales.

Sobre aquellos pacientes en los que, tras demostrar una prolongada y satisfactoria respuesta a la terapia con agentes anti-TNF α para su uveítis, se pudiese plantear la retirada del fármaco, ¿cuál debiera ser la pauta de actuación? Realmente son escasos los datos de los que disponemos sobre los pacientes tratados con éxito en los que se retira la medicación. En nuestra experiencia y en base a los pacientes incluidos en el estudio, la actitud suele ser la ampliación de periodos entre inyección/infusión (incrementando una semana cada 6 meses) hasta llegar a una inyección mensual. Si el paciente continuase en remisión, se plantearía el cese completo de tratamiento. En este sentido parecen esperanzadores los resultados obtenidos en este trabajo, dirigidos a conocer los mecanismos de acción de esta terapia. Éstos nos revelan que la terapia anti-TNF α proporciona una serie de cambios en la respuesta inmune del paciente que refuerzan la posibilidad de que le confieran una “resistencia” prolongada, más allá del tratamiento, frente a la enfermedad. El incremento en la población de células T-reguladoras así como el descenso de factores “clave” en la génesis y perpetuación de la inflamación intraocular como el VEGF, unidos al cambio en el perfil serológico de citoquinas y quimioquinas del paciente, pueden dar lugar a una serie de modificaciones en la respuesta inmune del mismo que permitan una cierta tolerancia frente a algunos de los antígenos intraoculares que antes provocaban una cascada inflamatoria autorreactiva. Los resultados de nuestro trabajo permiten sostener que el conocido efecto antiinflamatorio de la terapia anti-TNF α frente a las uveítis, va acompañado además de un importante efecto inmunomodulador a muy diversos niveles, todavía no enteramente conocido ni globalmente interpretable, que nos explica los excelentes resultados de estos tratamientos en entidades en las que *a priori* podría pensarse que dicha terapia no iba a producir efectos positivos. De hecho, ha sido la generalizada eficacia de estas terapias la que ha afianzado el papel crucial que juega el TNF α en el desarrollo y sostenimiento de los distintos tipos de uveítis. Así hoy es frecuente encontrar estudios, que reportan la experiencia clínica con estas terapias, que incluyen pacientes con uveítis idiopáticas o asociadas a entidades que no tienen indicación para tratamiento con este tipo de agentes, que hacen pensar que la indicación específica para el tratamiento de las uveítis con agentes anti-TNF α está probablemente próxima.

En cuanto a los efectos secundarios a largo plazo asociados al tratamiento con agentes anti-TNF α , conviene destacar que se dispone de escasos datos sobre inducción de neoplasias y/o aparición de otros efectos adversos clínicamente relevantes a largo plazo

en estos pacientes como ya se explicó en la sección C.2.3. En esta línea, parece oportuno incidir en que el algoritmo terapéutico propuesto por nosotros en los pacientes afectos de uveítis inmuno-mediadas esté basado en criterios de buena práctica. La eficacia de estos tratamientos no debe ocultar el escaso conocimiento que de ellos tenemos sobre los posibles efectos nocivos que puedan inducir en los pacientes que los reciben a largo plazo, y, en base a esto, deben ser prescritos cuando la situación clínica del paciente lo merezca, haciendo hincapié en un necesario balance riesgo/beneficio previo a esa decisión, que exigirá de un profundo conocimiento sobre el fármaco en cuestión, así como sobre la literatura científica al respecto. A esa reflexión ordenada y rigurosa, le debe acompañar una detenida información al paciente candidato a recibir el tratamiento para que sea conocedor de todos estos aspectos, cuyo fin no deberá ser la descarga de responsabilidades, sino su participación decisiva en este balance que determinará una toma de decisión consensuada.

Resulta también relevante la necesidad de discutir sobre el coste de estos fármacos especialmente en un contexto de graves condicionantes económicos como el actual en el que está en duda la sostenibilidad del sistema sanitario público en nuestro país, o al menos la continuación del mismo en las condiciones que hoy en día presenta. Es evidente que la terapia con agentes anti-TNF α ha supuesto también un cambio en lo que se refiere a coste por paciente tratado en el contexto de las uveítis. Sin embargo, este asunto no debiera analizarse superficialmente, sino que exige un análisis coste-efectividad para poder determinar el verdadero valor de esta intervención pudiendo compararla con las terapias tradicionales. En este análisis coste-efectividad, el coste de las intervenciones a comparar ocuparía el numerador de cada uno de los quebrados representando cada una de las intervenciones comparadas, mientras que el denominador sería ocupado por una medida de efectividad (que podrían ser los días libres de enfermedad, los días sin ingreso hospitalario etc). En este sentido sería vital que todas las intervenciones compartiesen un mismo tipo de denominador para poder ser comparables. Actualmente nos encontramos inmersos en la elaboración de un análisis de este tipo sobre el uso de agentes anti-TNF α en la uveítis.

El tratamiento con agentes anti-TNF α no está pues exento, pese a sus excelentes resultados, de dilemas y cuestiones aún por resolver. Serán pues los años venideros los que despejen muchas de estas incógnitas en lo referente al manejo de las uveítis con

estas terapias. En esta línea, quiero reservar en esta discusión un espacio para el futuro en el manejo de las uveítis con este y otros tipos de tratamientos. Así, ya se han apuntado en esta discusión algunas de las líneas futuras que parece que tendrán una considerable importancia en lo referente al uso de agentes anti-TNF α para el manejo de las uveítis, como son:

- 1) La determinación de niveles de anticuerpos producidos por el paciente frente al agente en cuestión, que puedan esclarecer las causas de resistencias acaecidas frente a fármacos que, durante un periodo de tiempo significativo, habían controlado la enfermedad. Aquí incluso se abriría la puerta a una posible anticipación por parte del médico a dichas resistencias mediante un control periódico de anticuerpos, pudiendo basar en estos niveles decisiones clínicas ulteriores respecto a incremento de dosis, asociación de otros fármacos etc.
- 2) La determinación de niveles de linfocitos T-reguladores y de otras moléculas implicadas decisivamente en el balance entre control/descompensación de las uveítis como podrían ser el VEGF u otras citocinas. Estas determinaciones podrían sustentar o contradecir, unidas a la determinación de anticuerpos, determinadas decisiones referentes al manejo terapéutico de los pacientes.

Sin embargo, todavía no se han comentado otras posibles vías en la evolución de estos tratamientos, que a pesar de haberse apuntado en algunos trabajos ya existentes, todavía no se han explorado con consistencia. Así, por ejemplo, está la cuestión de la vía de administración de estos fármacos. Ya se ha señalado, en la sección B de la introducción, cómo otros fármacos biológicos (especialmente los agentes anti-VEGF) han revolucionado el manejo de los pacientes oftalmológicos con diferentes tipos de patologías. Las propiedades de dichos fármacos ya se habían apuntado (de un modo observacional) al administrarlos de forma sistémica, sin embargo fue su administración intravítrea la que demostró unos beneficios espectaculares, que los catapultó al lugar de privilegio, en el algoritmo terapéutico, que ahora ocupan. En la sección C.2.3. se han comentado los resultados preliminares, en unos pocos estudios, del uso de agentes anti-TNF α para el tratamiento de las uveítis. Pese a que los resultados son cuando menos controvertidos, pensamos que esta vía podría ser idónea y que merecerá la pena ser evaluarla a fondo en el futuro, por cuanto a eficacia (al ser administrados en el lugar en

el que se está produciendo el fenómeno inflamatorio) y a preservación de efectos secundarios sistémicos (al ser administrados localmente) se refiere.

Otra posible vía de mejora en la utilización de estos fármacos, y que ya se ha apuntado en trabajos referentes a otras patologías, es la de la identificación de determinados polimorfismos en el genoma de los pacientes que los reciben y que puedan servir para identificar pacientes, *a priori*, especialmente resistentes o sensibles a estos tratamientos en general, o a alguno de estos fármacos en particular, implementando así notablemente los resultados de nuestras acciones terapéuticas. El estudio genético de las uveítis es todavía muy limitado, con lo que las posibilidades que éste puede brindar a a hora del manejo de estas patologías (no sólo con agentes anti-TNF α), es cuando menos esperanzador, si se tienen en cuenta los avances experimentados en otros campos de la medicina, y en concreto de la oftalmología, más estudiados.^{333, 334} Además, nos puede permitir importantes avances en el conocimiento de la etiopatogenia de estos procesos que puedan servir también para mejorar su orientación terapéutica.

6- CONCLUSIONES.

Primera: Adalimumab, un agente anti-TNF, administrado subcutáneamente a dosis de 40mg/2 semanas durante 6 meses consigue modificar, a corto y medio plazo, el curso clínico de las uveítis inmunomediadas en un 100% de la población de este estudio. El control absoluto de la inflamación persistió durante todo el periodo del estudio en el 75% de los pacientes. Ningún paciente tratado con adalimumab experimentó efectos secundarios relevantes que determinasen la necesidad de abandonar el tratamiento durante el periodo de estudio.

Segunda: Con la metodología empleada en este estudio se ha determinado que, en los pacientes con uveítis, adalimumab ejerce una acción doble antiinflamatoria e inmunomoduladora a través de varias vías que difieren de aquellas que caracterizan a los inmunosupresores convencionales como los esteroides y que afectan tanto a la respuesta inmune celular como a la humoral. Dichas vías son independientes de la enfermedad de base y de su actividad o quiescencia.

Tercera: En el grupo de uveítis incluídas en este estudio se objetivaron niveles basales elevados de mediadores de inflamación, tales como: IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , IL-12 e IL-22 que fueron estadísticamente significativos respecto al grupo de controles sanos.

Cuarta: Adalimumab produce un descenso significativo de IL-22, IL-6, IL-12 y VEGF que no se observó en el grupo de pacientes tratados con esteroides. La respuesta clínica favorable al tratamiento con adalimumab se correlaciona con el descenso de IL-22 y, en un 50% de los pacientes, con el de VEGF.

Quinta: Adalimumab induce un aumento de los linfocitos T reguladores que se correlaciona con la mejoría clínica del paciente, y que persiste en el tiempo. El empeoramiento clínico ulterior de algunos pacientes se asocia con un nuevo descenso en los niveles de estos linfocitos.

Sexta: El efecto inmunomodulador de adalimumab, plasmado en los datos obtenidos en este estudio, le otorga una superioridad respecto al tratamiento convencional con esteroides. Adalimumab presenta además mayor posibilidad de remisión de la enfermedad una vez retirado el tratamiento. El incremento del número de pacientes subsidiarios de ser tratados con adalimumab, podrá confirmar en el futuro la ventaja de terapias que actúan sobre la fisiopatología de las uveítis de forma más específica.

7- BIBLIOGRAFÍA

- 1) Foster CS, Gion N. The uvea: Anatomy, histology, and embryology, in: Foster CS, Vitale AT. Diagnosis and treatment of uveitis. Saunders, Philadelphia 2002:3-16.
- 2) Bloch-Michel E, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group recommendations for the evaluation of intraocular inflammatory disease. Am J Ophthalmol 1987; 103(2):234-5.
- 3) Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. Am J Ophthalmol 2005; 140(3):509-16.
- 4) Khairallah M. Are the Standardization of the Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group criteria for codifying the site of inflammation appropriate for all uveitis problems? Limitations of the SUN Working Group classification. Ocul Immunol Inflamm; 18(1):2-4.
- 5) Wakefield D, Chang JH. Epidemiology of uveitis. Int Ophthalmol Clin 2005; 45(2):1-13.
- 6) Noninfectious uveitis: Intermediate uveitis, in: Intraocular Inflammation and Uveitis. AAO: Basic and clinical science course (section 9). American Academy of Ophthalmology 2009:147-222.
- 7) Gritz DC, Wong IG. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; the Northern California Epidemiology of Uveitis Study. Ophthalmology. 2004 Mar; 111(3):491-500.
- 8) Bodaghi B, Cassoux N, Wechsler B, Hannouche D, Fardeau C, Papo T, Huong DL, Piette JC, LeHoang P. Chronic severe uveitis: etiology and visual outcome in 927 patients from a single center. Medicine (Baltimore). 2001 Jul; 80(4):263-70.
- 9) Foster CS, Cordero-Coma M, Streilein JW. Immune-mediated tissue injury, in: Albert DM, Miller JW, Azar DT, Blodi BA. Principles and practice of ophthalmology. Saunders, Philadelphia 2008.
- 10) Foster CS, Streilein JW. Basic Immunology, in: Foster CS, Vitale AT. Diagnosis and treatment of uveitis. Saunders, Philadelphia 2002:34-78
- 11) Ocular Immune responses, in: Intraocular Inflammation and Uveitis: Intermediate uveitis. AAO: Basic and clinical science course (section 9). American Academy of Ophthalmology 2009:31-41.
- 12) Caspi R. Autoimmunity in the immune privileged eye: pathogenic and regulatory T cells. Immunol Res. 2008; 42(1-3):41-50.

- 13) Caspi RR. Understanding autoimmune uveitis through animal models. The Friedenwald Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Mar 30; 52(3):1872-9.
- 14) Avichezer D, Grajewski RS, Chan CC, et al. An immunologically privileged retinal antigen elicits tolerance: major role for central selection mechanisms. *J Exp Med.* 2003; 198:1665–1676.
- 15) Silver PB, Agarwal RK, Su SB, et al. Hydrodynamic vaccination with DNA encoding an immunologically privileged retinal antigen protects from autoimmunity through induction of regulatory T cells. *J Immunol.* 2007; 179:5146–5158.
- 16) Caspi RR, Silver PB, Luger D, Tang J, Cortes LM, Pennesi G, Mattapallil MJ, Chan CC. Mouse models of experimental autoimmune uveitis. *Ophthalmic Res.* 2008; 40(3-4):169-74.
- 17) Peng Y, Han G, Shao H, Wang Y, Kaplan HJ, Sun D. Characterization of IL-17+ interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific T cells in experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Sep; 48(9):4153-61.
- 18) Ferraccioli G, Zizzo G. The potential role of Th17 in mediating the transition from acute to chronic autoimmune inflammation: rheumatoid arthritis as a model. *Discov Med.* 2011 May; 11(60):413-24.
- 19) Rodríguez-Reyna TS, Furuzawa-Carballeda J, Cabiedes J, Fajardo-Hermosillo LD, Martínez-Reyes C, Díaz-Zamudio M, Llorente L. Th17 peripheral cells are increased in diffuse cutaneous systemic sclerosis compared with limited illness: a cross-sectional study. *Rheumatol Int.* 2011 Jul 26.
- 20) Raychaudhuri SP, Raychaudhuri SK, Genovese MC. L-17 receptor and its functional significance in psoriatic arthritis. *Mol Cell Biochem.* 2012 Jan; 359(1-2):419-29.
- 21) Liu X, Lee YS, Yu CR, Egwuagu CE. Loss of STAT3 in CD4+ T cells prevents development of experimental autoimmune diseases. *J Immunol.* 2008 May 1; 180(9):6070-6.
- 22) Stein-Streilein J, Taylor AW. An eye's view of T regulatory cells. *J Leukoc Biol.* 2007; 81:593–598
- 23) Grajewski RS, Silver PB, Agarwal RK, et al. Endogenous IRBP can be dispensable for generation of natural CD4₊CD25₊ regulatory T cells that protect from IRBP-induced retinal autoimmunity. *J Exp Med.* 2006; 203:851–856

- 24) Chen L, Yang P, Zhou H, He H, Ren X, Chi W, Wang L, Kijlstra A. Diminished frequency and function of CD4+CD25high regulatory T cells associated with active uveitis in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 Aug; 49(8):3475-82.
- 25) Yeh S, Li Z, Forooghian F, Hwang FS, Cunningham MA, Pantanelli S, Lew JC, Wroblewski KK, Vitale S, Nussenblatt RB. CD4+Foxp3+ T-regulatory cells in noninfectious uveitis. *Arch Ophthalmol.* 2009 Apr; 127(4):407-13.
- 26) Sun M, Yang P, Du L, Zhou H, Ren X, Kijlstra A. Contribution of CD4+CD25+ T cells to the regression phase of experimental autoimmune uveoretinitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010 Jan; 51(1):383-9.
- 27) Silver PB, Agarwal RK, Su SB, et al. Hydrodynamic vaccination with DNA encoding an immunologically privileged retinal antigen protects from autoimmunity through induction of regulatory T cells. *J Immunol.* 2007; 179:5146–5158.
- 28) Heiligenhaus A, Thureau S, Hennig M, Grajewski RS, Wildner G. Anti-inflammatory treatment of uveitis with biologicals: new treatment options that reflect pathogenetic knowledge of the disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010 Nov; 248(11):1531-51.
- 29) Perez VL, Papaliadis GN, Chu D, Anzaar F, Christen W, Foster CS. Elevated levels of interleukin 6 in the vitreous fluid of patients with pars planitis and posterior uveitis: the Massachusetts eye & ear experience and review of previous studies. *Ocul Immunol Inflamm.* 2004 Sep; 12(3):193-201.
- 30) Shao H, Woon MD, Nakamura S, Sohn JH, Morton PA, Bora NS, Kaplan HJ. Requirement of B7-mediated costimulation in the induction of experimental autoimmune anterioruveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Aug; 42(9):2016-21.
- 31) Kim SJ, Zhang M, Vistica BP, Chan CC, Shen DF, Wawrousek EF, Gery I. Induction of ocular inflammation by T-helper lymphocytes type 2. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Mar; 43(3):758-65.
- 32) McPherson SW, Yang J, Chan CC, Dou C, Gregerson DS. Resting CD8 T cells recognize beta-galactosidase expressed in the immune-privileged retina and mediate autoimmune disease when activated. *Immunology.* 2003 Nov; 110(3):386-96.
- 33) Pennesi G, Mattapallil MJ, Sun SH, Avichezer D, Silver PB, Karabekian Z, David CS, Hargrave PA, McDowell JH, Smith WC, Wiggert B, Donoso LA, Chan CC, Caspi RR. A humanized model of experimental autoimmune uveitis in HLA class II transgenic mice. *J Clin Invest.* 2003 Apr; 111(8):1171-80.

- 34) H Chang JH, McCluskey PJ, Wakefield D. Acute anterior uveitis and HLA-B27. *Surv Ophthalmol*. 2005 Jul-Aug; 50(4):364-88.
- 35) Nussenblatt RB, Mittal KK, Ryan S, Green WR, Maumenee AE. Birdshot retinochoroidopathy associated with HLA-A29 antigen and immune responsiveness to retinal S-antigen. *Am J Ophthalmol* 1982; 94(2):147-58.
- 36) Brewerton DA, Caffrey M, Nicholls A, Walters D, James DC: Acute anterior uveitis and HL-A 27. *Lancet* 2:994-6, 1973.
- 37) Li Z, Liu B, Maminishkis A, Mahesh SP, Yeh S, Lew J, Lim WK, Sen HN, Clarke G, Buggage R, Miller SS, Nussenblatt RB. Gene expression profiling in autoimmune noninfectious uveitis disease. *J Immunol*. 2008 Oct 1; 181(7):5147-57.
- 38) Martin TM, Bye L, Modi N, Stanford MR, Vaughan R, Smith JR, Wade NK, Mackensen F, Suhler EB, Rosenbaum JT, Wallace GR. Genotype analysis of polymorphisms in autoimmune susceptibility genes, CTLA-4 and PTPN22, in an acute anterior uveitis cohort. *Mol Vis*. 2009; 15:208-12.
- 39) H Chang JH, Wakefield D. Uveitis: a global perspective. *Ocul Immunol Inflamm*. 2002; 10:263–279.
- 40) Henderly DE, Genstler AJ, Smith RE, et al. Changing patterns of uveitis. *Am J Ophthalmol*. 1987; 103:131–136.
- 41) Filipec M. Onchocerciasis, in: Foster CS, Vitale AT. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Saunders, Philadelphia 2002:3-16.
- 42) Durrani OM, Tehrani NN, Marr JE, Moradi P, Stavrou P, Murray PI. Degree, duration, and causes of visual loss in uveitis. *Br J Ophthalmol*. 2004 Sep; 88(9):1159-62.
- 43) Rothova A, Suttorp-van Schulten MS, Frits Treffers W, Kijlstra A. Causes and frequency of blindness in patients with intraocular inflammatory disease. *Br J Ophthalmol*. Apr 1996;80(4):332-336.
- 44) Suttorp-Schulten MSA, Rothova A. The possible impact of uveitis in blindness: A literature survey. *Br J Ophthalmol* 1996; 80:844–8.
- 45) Lardenoye CW, van Kooij B, Rothova A. Impact of macular edema on visual acuity in uveitis. *Ophthalmology*. 2006 Aug; 113(8):1446-9.
- 46) Scholl S, Kirchhof J, Augustin AJ. Pathophysiology of macular edema. *Ophthalmologica*. 2010;224 Suppl 1:8-15.
- 47) Power WJ, Rodriguez A, Pedroza-Seres M, Foster CS. Outcomes in anterior uveitis associated with the HLA-B27 haplotype. *Ophthalmology*. 1998 Sep;105(9):1646-51.

- 48) Guex-Crosier Y. The pathogenesis and clinical presentation of macular edema in inflammatory diseases. *Doc Ophthalmol.* 1999; 97(3-4):297-309.
- 49) Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveitic foveal atrophy: clinical features and associations. *Arch Ophthalmol.* 2009 Feb; 127(2):179-86.
- 50) Kiss CG, Barisani-Asenbauer T, Maca S, Richter-Mueksch S, Radner W. Reading performance of patients with uveitis-associated cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol.* Oct 2006;142(4):620-624.
- 51) Kiss CG, Barisani-Asenbauer T, Simader C, Maca S, Schmidt-Erfurth U. Central visual field impairment during and following cystoid macular oedema. *Br J Ophthalmol.* Jan 2008;92(1):84-88.
- 52) Sepah YJ, Hatef E, Colantuoni E, et al. Macular sensitivity and fixation patterns in normal eyes and eyes with uveitis with and without macular edema. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* Dec 14 2011.
- 53) Kirbach SE, Hayes OA, Cifaldi MA. The economic burden of uveitis. Póster presentdo en la American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting (ACR) en Atlanta, Georgia. Noviembre 2010.
- 54) Nguyen QD, Hatef E, Kayen B, Macahilig CP, Ibrahim M, Wang J, Shaikh O, Bodaghi B. A cross-sectional study of the current treatment patterns in noninfectious uveitis among specialists in the United States. *Ophthalmology.* 2011 Jan; 118(1):184-90.
- 55) Vitale AT, Foster CS. Treatment of uveitis-overview, in: Foster CS, Vitale AT. *Diagnosis and treatment of uveitis.* Saunders, Philadelphia 2002:141.
- 56) MacKenzie WA: *Practical treatise on the diseases of the eye.* London, Longman, Rees, Orme, Brown & Green, 1830: 422-57.
- 57) McLean JM, Gordon DM, Koteen H. Clinical experiences with ACTH and cortisone in ocular diseases. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1951 May-Jun; 55:565-72.
- 58) Priestley BS, Medine MM. A new mydriatic and cycloplegic drug. compound 75 G.T. *Am j ophthalmol.* 1951 apr; 34(4):572-5.
- 59) Roda Pérez E. Case of uveitis of unknown etiology treated with nitrogen mustards. *Rev Clin Esp.* 1951 May 31; 41(4):265-7.
- 60) Vitale AT, Foster CS. Corticosteroids, in: Foster CS, Vitale AT. *Diagnosis and treatment of uveitis.* Saunders, Philadelphia 2002:142-57.
- 61) Clinical approach to uveitis, in: *Intraocular Inflammation and Uveitis.* AAO: Basic and clinical science course (section 9). American Academy of Ophthalmology 2009:101-146.

- 62) Jabs DA, Rosenbaum JT, Foster CS, Holland GN, Jaffe GJ, Louie JS, Nussenblatt RB, Stiehm ER, Tessler H, Van Gelder RN, Whitcup SM, Yocum D et al. Guidelines for the use of immunosuppressive drugs in patients with ocular inflammatory disorders: recommendations of an expert panel. *Am J Ophthalmol* 2000; 130:492–513.
- 63) Pato E, Muñoz-Fernández S, Francisco F, Abad MA, Maese J, Ortiz A, Carmona L; Uveitis Working Group from Spanish Society of Rheumatology. Systematic review on the effectiveness of immunosuppressants and biological therapies in the treatment of autoimmune posterior uveitis. *Semin Arthritis Rheum*. 2011 Feb; 40(4):314-23.
- 64) Gulati N, Forooghian F, Lieberman R, Jabs DA. Vascular endothelial growth factor inhibition in uveitis: a systematic review. *Br J Ophthalmol*. 2011 Feb; 95(2):162-5.
- 65) Ossewaarde-van Norel A, Rothova A. Clinical review: Update on treatment of inflammatory macular edema. *Ocul Immunol Inflamm*. 2011 Feb; 19(1):75-83.
- 66) Cordero Coma M, Sobrin L, Onal S, Christen W, Foster CS. Intravitreal bevacizumab for treatment of uveitic macular edema. *Ophthalmology*. 2007 Aug; 114(8):1574-1579.
- 67) International nonproprietary names for monoclonal antibodies: IFMPA proposal. *WHO Drug information*, vol 22, no 2, 2008.
- 68) Santos Lacombe M, Marcos Martín C, Gallardo Galera JM, Gómez Vidal MA, Collantes Estévez E, Ramírez Chamond R, Omar M. Aqueous humor and serum tumor necrosis factor-alpha in clinical uveitis. *Ophthalmic Res*. 2001 Sep-Oct; 33(5):251-5.
- 69) Takeuchi M, Usui Y, Okunuki Y, Zhang L, Ma J, Yamakawa N, Hattori T, Kezuka T, Sakai J, Goto H. Immune responses to interphotoreceptor retinoid-binding protein and S-antigen in Behcet's patients with uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Jun; 51(6):3067-75.
- 70) Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med*. 2009 Aug 27; 361(9):888-98.
- 71) Fine HF, Baffi J, Reed GF, Csaky KG, Nussenblatt RB. Aqueous humor and plasma vascular endothelial growth factor in uveitis-associated cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol*. 2001 Nov; 132(5):794-6.
- 72) Foster CS, Vitale AT. Immunosuppressive chemotherapy, in: Foster CS, Vitale AT. *Diagnosis and treatment of uveitis*. Saunders, Philadelphia 2002:177-214.

- 73) Onal S, Savar F, Akman M, Kazokoglu H. Vision- and health-related quality of life in patients with Behçet uveitis. *Arch Ophthalmol*. 2010 Oct; 128(10):1265-71.
- 74) Feron EJ, Rothova A, van Hagen PM, Baarsma GS, Suttorp-Schulten MS. Interferon-alpha 2b for refractory ocular Behçet's disease. *Lancet*. 1994 Jun 4; 343(8910):1428.
- 75) Nussenblatt RB, Fortin E, Schiffman R, Rizzo L, Smith J, Van Veldhuisen P, Sran P, Yaffe A, Goldman CK, Waldmann TA, Whitcup SM. Treatment of noninfectious intermediate and posterior uveitis with the humanized anti-Tac mAb: a phase I/II clinical trial. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jun 22; 96(13):7462-6.
- 76) Reiff A, Takei S, Sadeghi S, Stout A, Shaham B, Bernstein B, Gallagher K, Stout T. Etanercept therapy in children with treatment-resistant uveitis. *Arthritis Rheum*. 2001 Jun; 44(6):1411-5.
- 77) Sfikakis PP, Theodossiadis PG, Katsiari CG, Kaklamanis P, Markomichelakis NN. Effect of infliximab on sight-threatening panuveitis in Behçet's disease. *Lancet*. 2001 Jul 28; 358(9278):295-6.
- 78) Scholl S, Kirchhof J, Augustin AJ. Pathophysiology of macular edema. *Ophthalmologica*. 2010;224 Suppl 1:8-15.
- 79) Johnson MW. Etiology and treatment of macular edema. *Am J Ophthalmol*. Jan 2009;147(1):11-21 e11.ç
- 80) Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med*. 1994 Dec 1; 331(22):1480-7.
- 81) Noma H, Funatsu H, Yamasaki M, et al. Aqueous humour levels of cytokines are correlated to vitreous levels and severity of macular oedema in branch retinal vein occlusion. *Eye (Lond)*. Jan 2008;22(1):42-48.
- 82) Edelman JL, Lutz D, Castro MR. Corticosteroids inhibit VEGF-induced vascular leakage in a rabbit model of blood-retinal and blood-aqueous barrier breakdown. *Exp Eye Res*. Feb 2005;80(2):249-258.
- 83) Rosenfeld PJ, Fung AE, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for macular edema from central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2005 Jul-Aug; 36(4):336-9.
- 84) Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, Giust MJ. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2006 Mar; 113(3):363-372.

- 85) Gaudio PA. Ranibizumab for uveitic macular edema: why? *Am J Ophthalmol.* 2009 Aug; 148(2):179-80.
- 86) Acharya NR, Hong KC, Lee SM. Ranibizumab for refractory uveitis-related macular edema. *Am J Ophthalmol.* Aug 2009;148(2):303-309.
- 87) Gower EW, Cassard SD, Bass EB, Schein OD, Bressler NM. A cost-effectiveness analysis of three treatments for age-related macular degeneration. *Retina.* 2010 Feb; 30(2):212-21.
- 88) Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, Bowman EP, Sgambellone NM, Chan CC, Caspi RR. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med.* 2008 Apr 14; 205(4):799-810.
- 89) Zhang Z, Zhong W, Spencer D, Chen H, Lu H, Kawaguchi T, Rosenbaum JT. Interleukin-17 causes neutrophil mediated inflammation in ovalbumin-induced uveitis in DO11.10 mice. *Cytokine.* 2009 Apr; 46(1):79-91.
- 90) Hueber W, Patel DD, Dryja T, Wright AM, Koroleva I, Bruin G, Antoni C, Draelos Z, Gold MH; Psoriasis Study Group, Durez P, Tak PP, Gomez-Reino JJ; Rheumatoid Arthritis Study Group, Foster CS, Kim RY, Samson CM, Falk NS, Chu DS, Callanan D, Nguyen QD; Uveitis Study Group, Rose K, Haider A, Di Padova F. Effects of AIN457, a fully human antibody to interleukin-17A, on psoriasis, rheumatoid arthritis, and uveitis. *Sci Transl Med.* 2010 Oct 6; 2(52):52ra72.
- 91) Rosenbaum JT. Future for biological therapy for uveitis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2010 Nov; 21(6):473-7.
- 92) Dick AD, Tugal-Tutkun I, Foster S, Zierhut M, Melissa Liew SH, Bezlyak V, Androudi S. Secukinumab in the treatment of noninfectious uveitis: results of three randomized, controlled clinical trials. *Ophthalmology.* 2013 Apr; 120(4):777-87.
- 93) Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, Emery P, Close DR, Stevens RM, Shaw T. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2004 Jun 17; 350(25):2572-81.
- 94) Davatchi F, Shams H, Rezaipoor M, Sadeghi-Abdollahi B, Shahram F, Nadjji A, Chams-Davatchi C, Akhlaghi M, Faezi T, Naderi N. Rituximab in intractable ocular lesions of Behcet's disease; randomized single-blind control study (pilot study). *Int J Rheum Dis.* 2010 Aug; 13(3):246-52.
- 95) Heiligenhaus A, Miseroocchi E, Heinz C, Gerloni V, Kotaniemi K. Treatment of severe uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab). *Rheumatology (Oxford).* 2011 Aug;50(8):1390-4.

- 96) Kurz PA, Suhler EB, Choi D, Rosenbaum JT. Rituximab for treatment of ocular inflammatory disease: a series of four cases. *Br J Ophthalmol*. 2009 Apr; 93(4):546-8.
- 97) Taylor SR, Salama AD, Joshi L, Pusey CD, Lightman SL. Rituximab is effective in the treatment of refractory ophthalmic Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum*. 2009 May; 60(5):1540-7.
- 98) Joshi L, Lightman SL, Salama AD, Shirodkar AL, Pusey CD, Taylor SR. Rituximab in refractory ophthalmic Wegener's granulomatosis: PR3 titers may predict relapse, but repeat treatment can be effective. *Ophthalmology*. 2011 Dec; 118(12):2498-503.
- 99) Vincenti F, Kirkman R, Light S, Bumgardner G, Pescovitz M, Halloran P, Neylan J, Wilkinson A, Ekberg H, Gaston R, Backman L, Burdick J. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. *N Engl J Med*. 1998 Jan 15;338(3):161-5.
- 100) Nussenblatt RB, Thompson DJ, Li Z, Chan CC, Peterson JS, Robinson RR, Shames RS, Nagarajan S, Tang MT, Mailman M, Velez G, Roy C, Levy-Clarke GA, Suhler EB, Djalilian A, Sen HN, Al-Khatib S, Ursea R, Srivastava S, Bamji A, Mellow S, Sran P, Waldmann TA, Buggage RR. Humanized anti-interleukin-2 (IL-2) receptor alpha therapy: long-term results in uveitis patients and preliminary safety and activity data for establishing parameters for subcutaneous administration. *J Autoimmun*. 2003 Nov; 21(3):283-93.
- 101) Buggage RR, Levy-Clarke G, Sen HN, Ursea R, Srivastava SK, Suhler EB, Altemare C, Velez G, Ragheb J, Chan CC, Nussenblatt RB, Bamji AT, Sran P, Waldmann T, Thompson DJ. A double-masked, randomized study to investigate the safety and efficacy of daclizumab to treat the ocular complications related to Behçet's disease. *Ocul Immunol Inflamm*. 2007 Mar-Apr;15(2):63-70.
- 102) Greenberg HB, Pollard RB, Lutwick LI, Gregory PB, Robinson WS, Merigan TC. Effect of human leukocyte interferon on hepatitis B virus infection in patients with chronic active hepatitis. *N Engl J Med*. 1976 Sep 2;295(10):517-22.
- 103) Jacobs L, O'Malley J, Freeman A, Ekes R. Intrathecal interferon reduces exacerbations of multiple sclerosis. *Science*. 1981 Nov 27; 214(4524):1026-8.
- 104) Sobaci G, Erdem U, Durukan AH, Erdurman C, Bayer A, Köksal S, Karagul S, Bayraktar MZ. Safety and effectiveness of interferon alpha-2a in treatment of patients with Behçet's uveitis refractory to conventional treatments. *Ophthalmology*. 2010 Jul; 117(7):1430-5.

- 105) Bodaghi B, Gendron G, Wechsler B, Terrada C, Cassoux N, Huong du LT, Lemaitre C, Fradeau C, LeHoang P, Piette JC. Efficacy of interferon alpha in the treatment of refractory and sight threatening uveitis: a retrospective monocentric study of 45 patients. *Br J Ophthalmol*. 2007 Mar; 91(3):335-9.
- 106) Deuter CM, Kötter I, Günaydin I, Stübiger N, Doycheva DG, Zierhut M. Efficacy and tolerability of interferon alpha treatment in patients with chronic cystoid macular oedema due to non-infectious uveitis. *Br J Ophthalmol*. 2009 Jul; 93(7):906-13.
- 107) Heiligenhaus A, Thurau S, Hennig M, Grajewski RS, Wildner G. Anti-inflammatory treatment of uveitis with biologicals: new treatment options that reflect pathogenetic knowledge of the disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010 Nov; 248(11):1531-51.
- 108) Becker MD, Heiligenhaus A, Hudde T, Storch-Hagenlocher B, Wildemann B, Barisani-Asenbauer T, Thimm C, Stübiger N, Trieschmann M, Fiehn C. Interferon as a treatment for uveitis associated with multiple sclerosis. *Br J Ophthalmol*. 2005 Oct; 89(10):1254-7.
- 109) Suzuki J, Sakai J, Okada AA, Takada E, Usui M, Mizuguchi J. Oral administration of interferon-beta suppresses experimental autoimmune uveoretinitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2002 Apr; 240(4):314-21.
- 110) Yoshimura T, Sonoda KH, Ohguro N, Ohsugi Y, Ishibashi T, Cua DJ, Kobayashi T, Yoshida H, Yoshimura A. Involvement of Th17 cells and the effect of anti-IL-6 therapy in autoimmune uveitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Apr; 48(4):347-54.
- 111) Muselier A, Bielefeld P, Bidot S, Vinit J, Besancenot JF, Bron A. Efficacy of tocilizumab in two patients with anti-TNF-alpha refractory uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2004 Sep; 12(3):193-201.
- 112) Maini RN, Taylor PC, Szechinski J, Pavelka K, Bröll J, Balint G, Emery P, Raemen F, Petersen J, Smolen J, Thomson D, Kishimoto T; CHARISMA Study Group. Double-blind randomized controlled clinical trial of the interleukin-6 receptor antagonist, tocilizumab, in European patients with rheumatoid arthritis who had an incomplete response to methotrexate. *Arthritis Rheum*. 2006 Sep; 54(9):2817-29.
- 113) Shao H, Woon MD, Nakamura S, Sohn JH, Morton PA, Bora NS, Kaplan HJ. Requirement of B7-mediated costimulation in the induction of experimental autoimmune anterior uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001 Aug; 42(9):2016-21.
- 114) Moreland LW, Alten R, Van den Bosch F, Appelboom T, Leon M, Emery P, Cohen S, Luggen M, Shergy W, Nuamah I, Becker JC. Costimulatory blockade in patients with rheumatoid arthritis: a pilot, dose-finding, double-blind, placebo-controlled clinical trial evaluating CTLA-4Ig and LEA29Y

eighty-five days after the first infusion. *Arthritis Rheum.* 2002 Jun; 46(6):1470-9.

- 115) Ruperto N, Lovell DJ, Quartier P, Paz E, Rubio-Pérez N, Silva CA, Abud-Mendoza C, Burgos-Vargas R, Gerloni V, Melo-Gomes JA, Saad-Magalhães C, Sztajn bok F, Goldenstein-Schainberg C, Scheinberg M, Penades IC, Fischbach M, Orozco J, Hashkes PJ, Hom C, Jung L, Lepore L, Oliveira S, Wallace CA, Sigal LH, Block AJ, Covucci A, Martini A, Giannini EH; Paediatric Rheumatology INternational Trials Organization; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. Abatacept in children with juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled withdrawal trial. *Lancet.* 2008 Aug 2; 372(9636):383-91.
- 116) Angeles-Han S, Flynn T, Lehman T. Abatacept for refractory juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis- a case report. *J Rheumatol.* 2008 Sep; 35(9):1897-8.
- 117) Zulian F, Balzarini M, Falcini F, Martini G, Alessio M, Cimaz R, Cimino L, Zannin ME. Abatacept for severe anti-tumor necrosis factor alpha refractory juvenile idiopathic arthritis-related uveitis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2010 Jun; 62(6):821-5.
- 118) Miller DH, Khan OA, Sheremata WA, Blumhardt LD, Rice GP, Libonati MA, Willmer-Hulme AJ, Dalton CM, Miskiel KA, O'Connor PW; International Natalizumab Multiple Sclerosis Trial Group. A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2003 Jan 2; 348(1):15-23.
- 119) Ellis CN, Krueger GG; Alefacept Clinical Study Group. Treatment of chronic plaque psoriasis by selective targeting of memory effector T lymphocytes. *N Engl J Med.* 2001 Jul 26; 345(4):248-55.
- 120) Takeuchi M, Usui Y, Okunuki Y, Zhang L, Ma J, Yamakawa N, Hattori T, Kezuka T, Sakai J, Goto H. Immune responses to interphotoreceptor retinoid-binding protein and S-antigen in Behcet's patients with uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010 Jun; 51(6):3067-75.
- 121) Mechanisms of immune effector reactivity, in: *Intraocular Inflammation and Uveitis: Intermediate uveitis.* AAO: Basic and clinical science course (section 9). American Academy of Ophthalmology 2009:43-86.
- 122) Moldawer L.L. The Tumor Necrosis Factor Superfamily and Its Receptors. In: Paul WE. *Fundamental Immunology* (Fifth edition). LW&W, Philadelphia. 2005: 749-73.
- 123) Infliximab Product Approval Information - Licensing Action. *Drugs@FDA.* U.S Food and Drug Administration (FDA). Enlace 05-01-2012.

- 124) Etanercept Product Approval Information - Licensing Action". *Drugs@FDA*. U.S Food and Drug Administration (FDA). Enlace 05-01-2012.
- 125) Adalimumab Product Approval Information - Licensing Action". *Drugs@FDA*. U.S Food and Drug Administration (FDA). Enlace 05-01-2012.
- 126) Boyce EG, Halilovic J, Stan-Ugbene O. Golimumab: Review of the efficacy and tolerability of a recently approved tumor necrosis factor- α inhibitor. *Clin Ther*. 2010 Sep; 32(10):1681-703.
- 127) Ash Z, Emery P. Golimumab - a new tool in the armoury against inflammatory arthritis. *Ann Med*. 2011 Mar; 43(2):133-4.
- 128) Cimzia Medication Guide. U.S. Food and Drug Administration (FDA). May 2009. Enlace 05-01-2012.
- 129) Cimzia European Public Assessment Report. European Medicines Agency. Enlace 05-01- 2012.
- 130) Cordero-Coma M, Salom D, Díaz-Llopis M, López-Prats MJ, Calleja S. Golimumab_for_uveitis. *Ophthalmology*. 2011 Sep; 118(9):1892.
- 131) Mewar D, Wilson AG. Treatment of rheumatoid arthritis with tumour necrosis factor inhibitors. *Br J Pharmacol*. 2011 Feb; 162(4):785-91.
- 132) Ruperto N, Lovell DJ, Cuttica R, Wilkinson N, Woo P, Espada G, Wouters C, Silverman ED, Balogh Z, Henrickson M, Apaz MT, Baildam E, Fasth A, Gerloni V, Lahdenne P, Prieur AM, Ravelli A, Saurenmann RK, Gamir ML, Wulffraat N, Marodi L, Petty RE, Joos R, Zulian F, McCurdy D, Myones BL, Nagy K, Reuman P, Szer I, Travers S, Beutler A, Keenan G, Clark J, Visvanathan S, Fasanmade A, Raychaudhuri A, Mendelsohn A, Martini A, Giannini EH; Paediatric Rheumatology International Trials Organisation; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. A randomized, placebo-controlled trial of infliximab plus methotrexate for the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007 Sep; 56(9):3096-106.
- 133) Yamada Y, Sugita S, Tanaka H, Kamoi K, Takase H, Mochizuki M. Timing of recurrent uveitis in patients with Behcet's disease receiving infliximab treatment. *Br J Ophthalmol*. 2011 Feb; 95(2):205-8.
- 134) Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, Stapel S, Lems WF, Aarden L, Dijkmans BA, Tak PP, Wolbink GJ. Anti-infliximab and anti-adalimumab antibodies in relation to response to adalimumab in infliximab switchers and anti-tumour necrosis factor naive patients: a cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2010 May; 69(5):817-21.

- 135) Bendtzen K, Geborek P, Svenson M, Larsson L, Kapetanovic MC, Saxne T. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor infliximab. *Arthritis Rheum.* 2006 Dec; 54(12):3782-9.
- 136) Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut.* 2010 Jan; 59(1):49-54.
- 137) Haraoui B, Cameron L, Ouellet M, White B. Anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis who require higher doses of infliximab to achieve or maintain a clinical response. *J Rheumatol.* 2006 Jan; 33(1):31-6.
- 138) Schiff RI. Half-life and clearance of pH 6.8 and pH 4.25 immunoglobulin G intravenous preparations in patients with primary disorders of humoral immunity. *Rev Infect Dis.* 1986 Jul-Aug; 8 Suppl 4:S449-56.
- 139) Palframan R, Airey M, Moore A, Vugler A, Nesbitt A. Use of biofluorescence imaging to compare the distribution of certolizumab pegol, adalimumab, and infliximab in the inflamed paws of mice with collagen-induced arthritis. *J Immunol Methods.* 2009 Aug 31; 348(1-2):36-41.
- 140) Cordero-Coma M, Benito MF, Fuertes CL, Antolín SC, García Ruíz JM. Adalimumab for Mooren's ulcer. *Ophthalmology.* 2009 Aug; 116(8):1589.
- 141) Chilton F, Collett RA. Treatment choices, preferences and decision-making by patients with rheumatoid arthritis. *Musculoskeletal Care.* 2008 Mar;6(1):1-14.
- 142) Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther.* 2008 Feb; 117(2):244-79.
- 143) Keystone EC, Ware CF. Tumor necrosis factor and anti-tumor necrosis factor therapies. *J Rheumatol Suppl.* 2010 May; 85:27-39.
- 144) Pleyer U, Mackensen F, Winterhalter S, Stübiger N. Anti-TNF- α treatment for uveitis. Analysis of the current situation. *Ophthalmologie.* 2011 Jan; 108(1):13-20.
- 145) Symmons D, Turner G, Webb E et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: new estimates for a new century. *Rheumatology* 2002; 41:793–800.
- 146) Lloyd S, Bujkiewicz S, Wailoo AJ, Sutton AJ, Scott D. The effectiveness of anti-TNF-alpha therapies when used sequentially in rheumatoid arthritis patients: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford).* 2010 Dec; 49(12):2313-21.

- 147) Klareskog L, van der Heijde D, de Page J et al. Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with rheumatoid arthritis: double blind randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 363:675–81.
- 148) Keystone E, Kavanaugh A, Sharp J et al. Radiographic, clinical and functional outcomes of treatment with adalimumab (a human anti tumor necrosis factor monoclonal antibody) in patients with active rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate therapy. A randomized, placebo controlled, 52 week trial. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1400–11.
- 149) St Clair E, Desiree M, van der Heijde M. Combination of infliximab and methotrexate therapy for early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3432–43.
- 150) Nixon R, Bansback N, Brennan A. Using mixed treatment comparisons and meta-regression to perform indirect comparisons to estimate the efficacy of biologic treatments in rheumatoid arthritis. *Stat Med* 2006; 26:1237–54.
- 151) Loftus CG, Loftus EV Jr, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Tremaine WJ, Melton LJ 3rd, Sandborn WJ. Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-2000. *Inflamm Bowel Dis*. 2007 Mar; 13(3):254-61.
- 152) Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Ollendorf D, Bousvaros A, Grand RJ, Finkelstein JA. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Dec; 5(12):1424-9.
- 153) Faubion WA Jr, Loftus EV Jr, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology*. 2001 Aug; 121(2):255-60.
- 154) Efficacy of biological therapies in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. Ford AC, Sandborn WJ, Khan KJ, Hanauer SB, Talley NJ, Moayyedi P. *Am J Gastroenterol*. 2011 Apr; 106(4):644-59.
- 155) Braun J, Bollow M, Remlinger G, Eggens U, Rudwaleit M, Distler A, Sieper J. Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors. *Arthritis Rheum*. 1998 Jan; 41(1):58-67.
- 156) Reed MR, Taylor AL. Tumour necrosis factor inhibitors in ankylosing spondylitis. *Intern Med J*. 2008 Oct; 38(10):781-9.
- 157) Brandt J, Khariouzov A, Listing J, Haibel H, Sørensen H, Grassnickel L, Rudwaleit M, Sieper J, Braun J. Six-month results of a double-blind, placebo-controlled trial of etanercept treatment in patients with active ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2003 Jun; 48(6):1667-75.

- 158) van der Heijde D, Dijkmans B, Geusens P, Sieper J, DeWoody K, Williamson P, Braun J; Ankylosing Spondylitis Study for the Evaluation of Recombinant Infliximab Therapy Study Group. Efficacy and safety of infliximab in patients with ankylosing spondylitis: results of a randomized, placebo-controlled trial (ASSERT). *Arthritis Rheum.* 2005 Feb; 52(2):582-91.
- 159) Sieper J, Baraliakos X, Listing J, Brandt J, Haibel H, Rudwaleit M, Braun J. Persistent reduction of spinal inflammation as assessed by magnetic resonance imaging in patients with ankylosing spondylitis after 2 yrs of treatment with the anti-tumour necrosis factor agent infliximab. *Rheumatology (Oxford).* 2005 Dec; 44(12):1525-30.
- 160) Davis JC, van der Heijde D, Dougados M, Woolley JM. Reductions in health-related quality of life in patients with ankylosing spondylitis and improvements with etanercept therapy. *Arthritis Rheum.* 2005 Aug 15; 53(4):494-501.
- 161) Woo JH, Lee HJ, Sung IH, Kim TH. Changes of clinical response and bone biochemical markers in patients with ankylosing spondylitis taking etanercept. *J Rheumatol.* 2007 Aug; 34(8):1753-9.
- 162) Braun J, Baraliakos X, Listing J, Sieper J. Decreased incidence of anterior uveitis in patients with ankylosing spondylitis treated with the anti-tumor necrosis factor agents infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum.* 2005 Aug; 52(8):2447-51.
- 163) Braun J, Baraliakos X, Listing J, Davis J, van der Heijde D, Haibel H, Rudwaleit M, Sieper J. Differences in the incidence of flares or new onset of inflammatory bowel diseases in patients with ankylosing spondylitis exposed to therapy with anti-tumor necrosis factor alpha agents. *Arthritis Rheum.* 2007 May 15; 57(4):639-47.
- 164) Plunkett A, Marks R. A review of the epidemiology of psoriasis vulgaris in the community. *Australas J Dermatol.* 1998 Nov; 39(4):225-32.
- 165) Gladman DD. Psoriatic arthritis. *Dermatol Ther.* 2009 Jan-Feb; 22(1):40-55.
- 166) Saurat JH, Stingl G, Dubertret L, et al: Efficacy and safety results from the randomized controlled comparative study of adalimumab vs. methotrexate vs. placebo in patients with psoriasis (CHAMPION). *Br J Dermatol* 2008, (158):558-566.
- 167) Papp KA, Tying S, Lahfa M, et al: A global phase III randomized controlled trial of etanercept in psoriasis: Safety, efficacy, and effect of dose reduction. *Br J Dermatol* 2005, (152):1304-1312.
- 168) Gottlieb AB, Evans R, Li S, et al: Infliximab induction therapy for patients with severe plaque-type psoriasis: A randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 2004, (51):534-542.

- 169) Shikiar R, Heffernan M, Langley RG, et al: Adalimumab treatment is associated with improvement in health-related quality of life in psoriasis: Patient-reported outcomes from a phase II randomized controlled trial. *J Dermatol Treat* 2007 (18):25-31.
- 170) Dauden E, Griffiths C, Ortonne JP, et al: Improvements in patient reported outcomes in moderate-to-severe psoriasis patients receiving continuous or paused etanercept treatment over 54 weeks: The CRYSTEL study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009 (23):1374-1382.
- 171) Menter A, Feldman SR, Weinstein GD, et al: A randomized comparison of continuous vs. intermittent infliximab maintenance regimens over 1 year in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2007 (56):e31-e15.
- 172) Mease PJ, Goffe BS, Metz J, et al: Etanercept in the treatment of psoriatic arthritis and psoriasis: A randomised trial. *Lancet* 2000 (356):385-390.
- 173) Genovese MC, Mease PJ, Thomson GT, et al: Safety and efficacy of adalimumab in treatment of patients with psoriatic arthritis who had failed disease modifying antirheumatic drug therapy. *J Rheumatol* 2007 (34):1040-1050.
- 174) Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet* 2007; 369:767-78.
- 175) Lovell DJ, Giannini EH, Reiff A, et al. Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2000; 342:763-9.
- 176) Genovese MC, Bathon JM, Fleischmann RM, et al. Longterm safety, efficacy, and radiographic outcome with etanercept treatment in patients with early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:1232-42.
- 177) Maini RN, Breedveld FC, Kalden JR, et al. Sustained improvement over two years in physical function, structural damage, and signs and symptoms among patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab and methotrexate. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1051-65.
- 178) Lovell DJ, Ruperto N, Goodman S, Reiff A, Jung L, Jarosova K, Nemcova D, Mouy R, Sandborg C, Bohnsack J, Elewaut D, Foeldvari I, Gerloni V, Rovensky J, Minden K, Vehe RK, Weiner LW, Horneff G, Huppertz HI, Olson NY, Medich JR, Carcereri-De-Prati R, McIlraith MJ, Giannini EH, Martini A; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group; Pediatric Rheumatology International Trials Organisation. Adalimumab with or without methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2008 Aug 21; 359(8):810-20.
- 179) Ruperto N, Lovell DJ, Cuttica R, Woo P, Meiorin S, Wouters C, Silverman ED, Balogh Z, Henrickson M, Davidson J, Foeldvari I, Imundo L, Simonini G, Oppermann J, Xu S, Shen YK, Visvanathan S, Fasanmade A,

Mendelsohn A, Martini A, Giannini EH; Paediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO); Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group (PRCSG). Long-term efficacy and safety of infliximab plus methotrexate for the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis: findings from an open-label treatment extension. *Ann Rheum Dis*. 2010 Apr; 69(4):718-22.

- 180) King CS, Kelly W. Treatment of sarcoidosis. *Dis Mon*. 2009 Nov; 55(11):704-18.
- 181) Baughman, R. P., et al. 2006. Infliximab therapy in patients with chronic sarcoidosis and pulmonary involvement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 174:795–802.
- 182) Loza MJ, Brodmerkel C, Du Bois RM, Judson MA, Costabel U, Drent M, Kavuru M, Flavin S, Lo KH, Barnathan ES, Baughman RP. Inflammatory profile and response to anti-tumor necrosis factor therapy in patients with chronic pulmonary sarcoidosis. Loza MJ, Brodmerkel C, Du Bois RM, Judson MA, Costabel U, Drent M, Kavuru M, Flavin S, Lo KH, Barnathan ES, Baughman RP. *Clin Vaccine Immunol*. 2011 Jun; 18(6):931-9.
- 183) The CD4+ lymphopenic sarcoidosis phenotype is highly responsive to anti-tumor necrosis factor- α therapy. Crouser ED, Lozanski G, Fox CC, Hauswirth DW, Raveendran R, Julian MW. *Chest*. 2010 Jun; 137(6):1432-5.
- 184) Chung SA, Seo P. Advances in the use of biologic agents for the treatment of systemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol*. 2009 Jan; 21(1):3-9.
- 185) Hoffman GS, Cid MC, Rendt-Zagar KE, et al. Infliximab for maintenance of glucocorticosteroid-induced remission of giant cell arteritis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146(9):621–30.
- 186) Molloy ES, Langford CA, Clark TM, Gota CE, Hoffman GS. Anti-tumour necrosis factor therapy in patients with refractory Takayasu arteritis: long-term follow-up. *Ann Rheum Dis*. 2008 Nov; 67(11):1567-9.
- 187) Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial (WGET) Research Group. Etanercept plus standard therapy for Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med*. 2005 Jan 27; 352(4):351-61.
- 188) de Menthon M, Cohen P, Pagnoux C, Buchler M, Sibilia J, Détrée F, Gayraud M, Khellaf M, Penalba C, Legallicier B, Mouthon L, Guillevin L. Infliximab or rituximab for refractory Wegener's granulomatosis: long-term follow up. A prospective randomised multicentre study on 17 patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2011 Jan-Feb; 29(1 Suppl 64):S63-71.
- 189) Askling J, Dixon W. The safety of anti-tumour necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2008 Mar; 20(2):138-44.

- 190) Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA*. 2006 May 17; 295(19):2275-85.
- 191) Askling J, Fored CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Feltelius N, Cöster L, Geborek P, Jacobsson LT, Lindblad S, Lysholm J, Rantapää-Dahlqvist S, Saxne T, van Vollenhoven RF, Klareskog L. Time-dependent increase in risk of hospitalisation with infection among Swedish RA patients treated with TNF antagonists. *Ann Rheum Dis*. 2007 Oct; 66(10):1339-44.
- 192) Bongartz T, Warren FC, Mines D, Matteson EL, Abrams KR, Sutton AJ. Etanercept therapy in rheumatoid arthritis and the risk of malignancies: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised controlled trials. *Ann Rheum Dis*. 2009 Jul; 68(7):1177-83.
- 193) Sack M. Tumor necrosis factor-alpha in cardiovascular biology and the potential role for anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in heart disease. *Pharmacol Ther*. 2002 Apr-May; 94(1-2):123-35.
- 194) Danila MI, Patkar NM, Curtis JR, Saag KG, Teng GG. Biologics and heart failure in rheumatoid arthritis: are we any wiser? *Curr Opin Rheumatol*. 2008 May; 20(3):327-33.
- 195) Lozeron P, Denier C, Lacroix C, Adams D. Long-term course of demyelinating neuropathies occurring during tumor necrosis factor-alpha-blocker therapy. *Arch Neurol*. 2009 Apr; 66(4):490-7.
- 196) H Coffin CS, Fraser HF, Panaccione R, Ghosh S. Liver diseases associated with anti-tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) use for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Jan; 17(1):479-84.
- 197) H Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Soto MJ, Cuadrado MJ, Khamashta MA. Autoimmune diseases induced by TNF-targeted therapies. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008 Oct; 22(5):847-61.
- 198) Desai SB, Furst DE. Problems encountered during anti-tumour necrosis factor therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006 Aug; 20(4):757-90.
- 199) Brunasso AM, Massone C. Thrombocytopenia associated with the use of anti-tumor necrosis factor-alpha agents for psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 2009 May; 60(5):781-5.
- 200) Lecluse LL, Piskin G, Mekkes JR, Bos JD, de Rie MA. *Br J Dermatol*. 2008 Sep; 159(3):527-36.
- 201) Baumgart DC, Grittner U, Steingraber A, Azzaro M, Philipp S. Frequency, phenotype, outcome, and therapeutic impact of skin reactions following initiation of adalimumabtherapy: experience from a consecutive cohort of

- inflammatory bowel disease patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Dec; 17(12):2512-20.
- 202) Aarden L, Ruuls SR, Wolbink G. Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement. *Curr Opin Immunol*. 2008 Aug; 20(4):431-5.
- 203) Pascual-Salcedo D, Plasencia C, Ramiro S, Nuño L, Bonilla G, Nagore D, Ruiz Del Agua A, Martínez A, Aarden L, Martín-Mola E, Balsa A. Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Aug; 50(8):1445-52.
- 204) van Kuijk AW, de Groot M, Stapel SO, Dijkmans BA, Wolbink GJ, Tak PP. Relationship between the clinical response to adalimumab treatment and serum levels of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010 Mar; 69(3):624-5.
- 205) Beigel F, Schnitzler F, Paul Laubender R, Pfennig S, Weidinger M, Göke B, Seiderer J, Ochsenkühn T, Brand S. Formation of antinuclear and double-strand DNA antibodies and frequency of lupus-like syndrome in anti-TNF- α antibody-treated patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Jan; 17(1):91-8.
- 206) Ferraccioli GF, Assaloni R, Perin A. Drug-induced systemic lupus erythematosus and TNF-alpha blockers. *Lancet*. 2002 Aug 24; 360(9333):645.
- 207) Farah RE, Shay MD. Pulmonary sarcoidosis associated with etanercept therapy. *Pharmacotherapy*. 2007 Oct; 27(10):1446-8.
- 208) González-López MA, Blanco R, González-Vela MC, Fernández-Llaca H, Rodríguez-Valverde V. Development of sarcoidosis during etanercept therapy. *Arthritis Rheum*. 2006 Oct 15; 55(5):817-20.
- 209) Ziegenhagen MW, Müller-Quernheim J. The cytokine network in sarcoidosis and its clinical relevance. *J Intern Med*. 2003 Jan; 253(1):18-30.
- 210) Mohan N, Edwards ET, Cupps TR, Slifman N, Lee JH, Siegel JN, Braun MM. Leukocytoclastic vasculitis associated with tumor necrosis factor-alpha blocking agents. *J Rheumatol*. 2004 Oct; 31(10):1955-8.
- 211) Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Muñoz S, Soria N, Galiana D, Bertolaccini L, Cuadrado MJ, Khamashta MA. Autoimmune diseases induced by TNF-targeted therapies: analysis of 233 cases. *Medicine (Baltimore)*. 2007 Jul; 86(4):242-51.
- 212) Dick AD, Forrester JV, Liversidge J, Cope AP. The role of tumour necrosis factor (TNF-alpha) in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). *Prog Retin Eye Res*. 2004 Nov; 23(6):617-37.

- 213) Wong M, Ziring D, Korin Y, Desai S, Kim S, Lin J, Gjertson D, Braun J, Reed E, Singh RR. TNFalpha blockade in human diseases: mechanisms and future directions. *Clin Immunol*. 2008 Feb; 126(2):121-36.
- 214) Khera TK, Dick AD, Nicholson LB. Mechanisms of TNF α regulation in uveitis: focus on RNA-binding proteins. *Prog Retin Eye Res*. 2010 Nov; 29(6):610-21.
- 215) Curnow SJ, Pryce K, Modi N, Knight B, Graham EM, Stewart JE, Fortune F, Stanford MR, Murray PI, Wallace GR. Serum cytokine profiles in Behçet's disease: is there a role for IL-15 in pathogenesis? *Immunol Lett*. 2008 Nov 16; 121(1):7-12.
- 216) Ozdamar Y, Berker N, Bahar G, Soykan E, Bicer T, Ozkan SS, Karakaya J. Inflammatory mediators and posterior segment involvement in ocular Behçet disease. *Eur J Ophthalmol*. 2009 Nov-Dec; 19(6):998-1003.
- 217) Sakaguchi M, Sugita S, Sagawa K, Itoh K, Mochizuki M. Cytokine production by T cells infiltrating in the eye of uveitis patients. *Jpn J Ophthalmol*. 1998 Jul-Aug; 42(4):262-8.
- 218) Sartani G, Silver PB, Rizzo LV, Chan CC, Wiggert B, Mastorakos G, Caspi RR. Anti-tumor necrosis factor alpha therapy suppresses the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice by inhibiting antigen priming. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996 Oct; 37(11):2211-8.
- 219) Gupta V, Gupta A, Rao NA. Intraocular Tuberculosis-An update. *Surv Ophthalmol*. 2007 Nov-Dec; 52(6):561-87.
- 220) Cordero-Coma M, Calleja S, Torres HE, del Barrio I, Franco M, Yilmaz T, Vivas S, de Morales JG. The value of an immune response to Mycobacterium tuberculosis in patients with chronic posterior uveitis revisited: utility of the new IGRAs. *Eye (Lond)*. 2010 Jan; 24(1):36-43.
- 221) Ang M, Htoon HM, Chee SP. Diagnosis of tuberculous uveitis: clinical application of an interferon-gamma release assay. *Ophthalmology*. 2009 Jul; 116(7):1391-6.
- 222) Torres HE, Zapico M, Vivas S, Mostaza JL, Blanco J, Ruiz de Morales JM. Clinical performance of antigen-specific interferon-gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis in risky hospital-based populations. *Med Clin (Barc)*. 2008 May 31; 130(20):761-6.
- 223) Cordero-Coma M, Benito MF, Hernández AM, Antolín SC, Ruíz JM. Serpiginous choroiditis. *Ophthalmology*. 2008 Sep; 115(9):1633, 1633
- 224) Chung SJ, Kim JK, Park MC, Park YB, Lee SK. Reactivation of hepatitis B viral infection in inactive HBsAg carriers following anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *J Rheumatol*. 2009 Nov; 36(11):2416-20.

- 225) Gaylis NB. Long-term follow-up of an HIV-infected patient with reactive arthritis treated with infliximab. *J Clin Rheumatol*. 2012 Apr; 18(3):153-4.
- 226) Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Shoenfeld Y, Ferraccioli G. TNF-alpha, rheumatoid arthritis, and heart failure: a rheumatological dilemma. *Autoimmun Rev*. 2005 Mar; 4(3):153-61.
- 227) Djokanovic N, Klieger-Grossmann C, Pupco A, Koren G. Safety of infliximab use during pregnancy. *Reprod Toxicol*. 2011 Jul; 32(1):93-7.
- 228) Heller MM, Wu JJ, Murase JE. Fatal case of disseminated BCG infection after vaccination of an infant with in utero exposure to infliximab. *J Am Acad Dermatol*. 2011 Oct; 65(4):870.
- 229) Cheent K, Nolan J, Shariq S, Kiho L, Pal A, Arnold J. Case Report: Fatal case of disseminated BCG infection in an infant born to a mother taking infliximab for Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2010 Nov; 4(5):603-5.
- 230) Fromont A, De Seze J, Fleury MC, Maillefert JF, Moreau T. Inflammatory demyelinating events following treatment with anti-tumor necrosis factor. *Cytokine*. 2009 Feb; 45(2):55-7.
- 231) Lin J, Ziring D, Desai S, Kim S, Wong M, Korin Y, Braun J, Reed E, Gjertson D, Singh RR. TNFalpha blockade in human diseases: an overview of efficacy and safety. *Clin Immunol*. 2008 Jan; 126(1):13-30.
- 232) Oxford Centre for Evidence-based Medicine - Levels of Evidence (March 2009). *BJU Int*.; 104(11):1825.
- 233) Harper SL, Chorich, L.J., Foster, C.S. . Diagnosis of uveitis. In: Vitale A. FCS, ed. *Diagnosis and Treatment of Uveitis*. Philadelphia: W.B. Sanders; 2002:79-97.
- 234) Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT; Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol*. 2005 Sep; 140(3):509-16.
- 235) Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, Roberge F. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology*. Apr 1985; 92(4):467-471.
- 236) Nussenblatt RB, Whitcup, S.M., Palestine, A.G. Uveitis: fundamentals and clinical practice. . In: Nussenblatt RB, Whitcup, S.M., Palestine, A.G., ed. *Examination of the patient with uveitis*. St. Louis: Mosby; 1996:58-68.
- 237) Rao NA, Forster, D.J., Spalton, D.J. The uvea. Uveitis and intraocular neoplasms. In: Podos SM, Yanoff, M., ed. *Anterior uveitis*. Vol 2. New York: Gover Medical Publishing; 1992:1-19.

- 238) Forrester JV, Ben Ezra, D., Nussenblatt, R.B., Tabbara, K.F., Timonen, P. Grading of intermediate, posterior uveitis. In: Tabbara KF, Nussenblatt, R.B., ed. *Posterior uveitis: diagnosis and management*. Boston: Butterworth-Heinemann; 1994:5-18.
- 239) BenEzra D, Forrester JV, Nussenblatt RB, et al. *Uveitis Scoring System*. Berlin: Springer Verlag;1991:4–5.
- 240) Hogan MJ, Kimura SJ, Thygeson P. Signs and symptoms of uveitis. *Am J Im- Ophthalmol*. 1959; 47:155–170.
- 241) Diaz-Llopis M, Garcia-Delpech S, Salom D, et al. Adalimumab therapy for refractory uveitis: a pilot study. *J Ocul Pharmacol Ther*. Jun 2008; 24(3):351-361.
- 242) Rudwaleit M, Rodevand E, Holck P, et al. Adalimumab effectively reduces the rate of anterior uveitis flares in patients with active ankylosing spondylitis: results of a prospective open-label study. *Ann Rheum Dis*. May 2009; 68(5):696-701.
- 243) Simonini G, Taddio A, Cattalini M, et al. Prevention of flare recurrences in childhood-refractory chronic uveitis: an open-label comparative study of adalimumab versus infliximab. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. Apr 2011; 63(4):612-618.
- 244) Foeldvari I, Nielsen S, Kummerle-Deschner J, et al. Tumor necrosis factor-alpha blocker in treatment of juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis refractory to second-line agents: results of a multinational survey. *J Rheumatol*. May 2007; 34(5):1146-1150.
- 245) Trachana M, Pratsidou-Gertsis P, Pardalos G, Kozeis N, Badouraki M, Kanakoudi-Tsakalidou F. Safety and efficacy of adalimumab treatment in Greek children with juvenile idiopathic arthritis. *Scand J Rheumatol*. Mar 2011;40(2):101-107.
- 246) Biester S, Deuter C, Michels H, et al. Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood. *Br J Ophthalmol*. Mar 2007; 91(3):319-324.
- 247) Bawazeer A, Raffa LH, Nizamuddin SH. Clinical experience with adalimumab in the treatment of ocular Behcet disease. *Ocul Immunol Inflamm*. Jun 2010; 18(3):226-232.
- 248) Callejas-Rubio JL, Sanchez-Cano D, Serrano JL, Ortego-Centeno N. Adalimumab therapy for refractory uveitis: a pilot study. *J Ocul Pharmacol Ther*. Dec 2008; 24(6):613-614; author reply 614.
- 249) Calvo Catala J, Campos Fernandez C, Rueda Cid A, Gonzalez-Cruz Cervellera MI, Baixauli Rubio A, Pastor Cubillo MD. [Efficacy of

- adalimumab in Behcet's disease. Description of 6 cases]. *Reumatol Clin*. Jul-Aug 2011;7(4):258-261.
- 250) Mushtaq B, Saeed T, Situnayake RD, Murray PI. Adalimumab for sight-threatening uveitis in Behcet's disease. *Eye (Lond)*. Jun 2007; 21(6):824-825.
- 251) Tynjala P, Kotaniemi K, Lindahl P, et al. Adalimumab in juvenile idiopathic arthritis-associated chronic anterior uveitis. *Rheumatology (Oxford)*. Mar 2008;47(3):339-344.
- 252) Vazquez-Cobian LB, Flynn T, Lehman TJ. Adalimumab therapy for childhood uveitis. *J Pediatr*. Oct 2006; 149(4):572-575.
- 253) Huynh N, Cervantes-Castaneda RA, Bhat P, Gallagher MJ, Foster CS. Biologic response modifier therapy for psoriatic ocular inflammatory disease. *Ocul Immunol Inflamm*. May-Jun 2008; 16(3):89-93.
- 254) Petropoulos IK, Vaudaux JD, Guex-Crosier Y. Anti-TNF-alpha therapy in patients with chronic non-infectious uveitis: the experience of Jules Gonin Eye Hospital. *Klin Monbl Augenheilkd*. May 2008; 225(5):457-461.
- 255) Guignard S, Gossec L, Salliot C, et al. Efficacy of tumour necrosis factor blockers in reducing uveitis flares in patients with spondylarthropathy: a retrospective study. *Ann Rheum Dis*. Dec 2006; 65(12):1631-1634.
- 256) Gallagher M, Quinones K, Cervantes-Castaneda RA, Yilmaz T, Foster CS. Biological response modifier therapy for refractory childhood uveitis. *Br J Ophthalmol*. Oct 2007; 91(10):1341-1344.
- 257) Al-Rayes H, Al-Swailem R, Al-Balawi M, Al-Dohayan N, Al-Zaidi S, Tariq M. Safety and efficacy of infliximab therapy in active behcet's uveitis: an open-label trial. *Rheumatol Int*. Nov 2008; 29(1):53-57.
- 258) Ohno S, Nakamura S, Hori S, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behcet's disease with refractory uveoretinitis. *J Rheumatol*. Jul 2004; 31(7):1362-1368.
- 259) Suhler EB, Smith JR, Giles TR, et al. Infliximab therapy for refractory uveitis: 2-year results of a prospective trial. *Arch Ophthalmol*. Jun 2009; 127(6):819-822.
- 260) Suhler EB, Smith JR, Wertheim MS, et al. A prospective trial of infliximab therapy for refractory uveitis: preliminary safety and efficacy outcomes. *Arch Ophthalmol*. Jul 2005; 123(7):903-912.
- 261) Abu El-Asrar AM, Abboud EB, Aldibhi H, Al-Arfaj A. Long-term safety and efficacy of infliximab therapy in refractory uveitis due to Behcet's disease. *Int Ophthalmol*. Jun 2005; 26(3):83-92.

- 262) Accorinti M, Pirraglia MP, Paroli MP, Priori R, Conti F, Pivetti-Pezzi P. Infliximab treatment for ocular and extraocular manifestations of Behcet's disease. *Jpn J Ophthalmol*. May-Jun 2007; 51(3):191-196.
- 263) Arayssi T, Hamra R, Homeidan F, et al. The efficacy of a single dose of infliximab in the treatment of Behcet's disease uveitis. *Clin Exp Rheumatol*. May-Jun 2005; 23(3):427.
- 264) Benitez-del-Castillo JM, Martinez-de-la-Casa JM, Pato-Cour E, et al. Long-term treatment of refractory posterior uveitis with anti-TNFalpha (infliximab). *Eye (Lond)*. Aug 2005;19(8):841-845.
- 265) Joseph A, Raj D, Dua HS, Powell PT, Lanyon PC, Powell RJ. Infliximab in the treatment of refractory posterior uveitis. *Ophthalmology*. Jul 2003; 110(7):1449-1453.
- 266) Lindstedt EW, Baarsma GS, Kuijpers RW, van Hagen PM. Anti-TNF-alpha therapy for sight threatening uveitis. *Br J Ophthalmol*. May 2005; 89(5):533-536.
- 267) Markomichelakis NN, Theodossiadis PG, Pantelia E, Papaefthimiou S, Theodossiadis GP, Sfikakis PP. Infliximab for chronic cystoid macular edema associated with uveitis. *Am J Ophthalmol*. Oct 2004; 138(4):648-650.
- 268) Niccoli L, Nannini C, Benucci M, et al. Long-term efficacy of infliximab in refractory posterior uveitis of Behcet's disease: a 24-month follow-up study. *Rheumatology (Oxford)*. Jul 2007; 46(7):1161-1164.
- 269) Sfikakis PP, Kaklamanis PH, Elezoglou A, et al. Infliximab for recurrent, sight-threatening ocular inflammation in Adamantiades-Behcet disease. *Ann Intern Med*. Mar 2 2004; 140(5):404-406.
- 270) Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M, et al. Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behcet's disease: an open-label trial. *Arthritis Rheum*. Aug 2005; 52(8):2478-2484.
- 271) Yamada Y, Sugita S, Tanaka H, Kamoi K, Kawaguchi T, Mochizuki M. Comparison of infliximab versus ciclosporin during the initial 6-month treatment period in Behcet disease. *Br J Ophthalmol*. Mar 2010; 94(3):284-288.
- 272) Niccoli L, Nannini C, Cassara E, Gini G, Lenzetti I, Cantini F. Efficacy of infliximab therapy in two patients with refractory Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol*. Nov 2009; 93(11):1553-1554.
- 273) Sugita S, Yamada Y, Kaneko S, Horie S, Mochizuki M. Induction of regulatory T cells by infliximab in Behcet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Jan 2011; 52(1):476-484.

- 274) Sugita S, Yamada Y, Mochizuki M. Relationship between serum infliximab levels and acute uveitis attacks in patients with Behcet disease. *Br J Ophthalmol*. Apr 2011; 95(4):549-552.
- 275) Tugal-Tutkun I, Ayranci O, Kasapcopur O, Kir N. Retrospective analysis of children with uveitis treated with infliximab. *J AAPOS*. Dec 2008; 12(6):611-613.
- 276) Adan A, Hernandez V, Ortiz S, et al. Effects of infliximab in the treatment of refractory posterior uveitis of Behcet's disease after withdrawal of infusions. *Int Ophthalmol*. Oct 2010; 30(5):577-581.
- 277) Ardoin SP, Kredich D, Rabinovich E, Schanberg LE, Jaffe GJ. Infliximab to treat chronic noninfectious uveitis in children: retrospective case series with long-term follow-up. *Am J Ophthalmol*. Dec 2007; 144(6):844-849.
- 278) Bodaghi B, Bui Quoc E, Wechsler B, et al. Therapeutic use of infliximab in sight threatening uveitis: retrospective analysis of efficacy, safety, and limiting factors. *Ann Rheum Dis*. Jun 2005; 64(6):962-964.
- 279) El-Shabrawi Y, Hermann J. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy with infliximab as an alternative to corticosteroids in the treatment of human leukocyte antigen B27-associated acute anterior uveitis. *Ophthalmology*. Dec 2002; 109(12):2342-2346.
- 280) Kahn P, Weiss M, Imundo LF, Levy DM. Favorable response to high-dose infliximab for refractory childhood uveitis. *Ophthalmology*. May 2006; 113(5):860-864 e862.
- 281) Khalifa YM, Bailony MR, Acharya NR. Treatment of pediatric vogt-koyanagi-harada syndrome with infliximab. *Ocul Immunol Inflamm*. Jun 2010; 18(3):218-222.
- 282) Lanthier N, Parc C, Scavennec R, Dhote R, Brezin AP, Guillevi L. Infliximab in the treatment of posterior uveitis in Behcet's disease. Long term follow up in four patients. *Presse Med*. Jul 23 2005; 34(13):916-918.
- 283) Lopez-Gonzalez R, Loza E, Jover JA, et al. Treatment of refractory posterior uveitis with infliximab: a 7-year follow-up study. *Scand J Rheumatol*. Jan-Feb 2009; 38(1):58-62.
- 284) Mansour AM. Infliximab treatment of posterior uveitis. *Ophthalmology*. Jan 2004; 111(1):197-198; author reply 198.
- 285) Menghini M, Frimmel SA, Windisch R, Meier FM. Efficacy of infliximab therapy in two patients with sympathetic ophthalmia. *Klin Monbl Augenheilkd*. Apr 2011; 228(4):362-363.

- 286) Murphy CC, Ayliffe WH, Booth A, Makanjuola D, Andrews PA, Jayne D. Tumor necrosis factor alpha blockade with infliximab for refractory uveitis and scleritis. *Ophthalmology*. Feb 2004; 111(2):352-356.
- 287) Rajaraman RT, Kimura Y, Li S, Haines K, Chu DS. Retrospective case review of pediatric patients with uveitis treated with infliximab. *Ophthalmology*. Feb 2006; 113(2):308-314.
- 288) Richards JC, Tay-Kearney ML, Murray K, Manners P. Infliximab for juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Clin Experiment Ophthalmol*. Oct 2005; 33(5):461-468.
- 289) Sharma SM, Ramanan AV, Riley P, Dick AD. Use of infliximab in juvenile onset rheumatological disease-associated refractory uveitis: efficacy in joint and ocular disease. *Ann Rheum Dis*. Jun 2007; 66(6):840-841.
- 290) Sobrin L, Kim EC, Christen W, Papadaki T, Letko E, Foster CS. Infliximab therapy for the treatment of refractory ocular inflammatory disease. *Arch Ophthalmol*. Jul 2007; 125(7):895-900.
- 291) Tabbara KF, Al-Hemidan AI. Infliximab effects compared to conventional therapy in the management of retinal vasculitis in Behcet disease. *Am J Ophthalmol*. Dec 2008; 146(6):845-850 e841.
- 292) Tognon S, Graziani G, Marcolongo R. Anti-TNF-alpha therapy in seven patients with Behcet's uveitis: advantages and controversial aspects. *Ann N Y Acad Sci*. Sep 2007; 1110:474-484.
- 293) Wang Y, Gaudio PA. Infliximab therapy for 2 patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Ocul Immunol Inflamm*. Jul-Aug 2008;16(4):167-171.
- 294) Wechsler B, Sable-Fourtassou R, Bodaghi B, et al. Infliximab in refractory uveitis due to Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. Jul-Aug 2004;22(4 Suppl 34):S14-16.
- 295) Katsiari CG, Theodossiadis PG, Kaklamanis PG, Markomichelakis NN, Sfrikakis PP. Successful long-term treatment of refractory Adamantiades- Behcet's disease (ABD) with infliximab: report of two patients. *Adv Exp Med Biol*. 2003; 528:551-555.
- 296) Smith JR, Levinson, R.D., Holland, G.N., Jabs, D.A., Robinson, M.R., Whitcup, S.M., Rosenbaum, J.T. Differential efficacy of tumor necrosis factor inhibition in the management of inflammatory eye disease and associated rheumatic disease. *Arthritis Rheum*. 2001; 45(3):252-257.
- 297) Galor A, Perez VL, Hammel JP, Lowder CY. Differential effectiveness of etanercept and infliximab in the treatment of ocular inflammation. *Ophthalmology*. Dec 2006;113(12):2317-2323.

- 298) Saurenmann RK, Levin AV, Feldman BM, et al. Prevalence, risk factors, and outcome of uveitis in juvenile idiopathic arthritis: a long-term followup study. *Arthritis Rheum.* Feb 2007; 56(2):647-657.
- 299) Smith JA, Thompson DJ, Whitcup SM, et al. A randomized, placebo-controlled, double-masked clinical trial of etanercept for the treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* Feb 15 2005; 53(1):18-23.
- 300) Foster CS, Tufail F, Waheed NK, et al. Efficacy of etanercept in preventing relapse of uveitis controlled by methotrexate. *Arch Ophthalmol.* Apr 2003; 121(4):437-440.
- 301) Reiff A. Long-term outcome of etanercept therapy in children with treatment-refractory uveitis. *Arthritis Rheum.* Jul 2003; 48(7):2079-2080.
- 302) Reiff A, Takei S, Sadeghi S, et al. Etanercept therapy in children with treatment-resistant uveitis. *Arthritis Rheum.* Jun 2001; 44(6):1411-1415.
- 303) Tynjala P, Lindahl P, Honkanen V, Lahdenne P, Kotaniemi K. Infliximab and etanercept in the treatment of chronic uveitis associated with refractory juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis.* Apr 2007; 66(4):548-550.
- 304) Smith JR, Levinson, R.D., Holland, G.N., Jabs, D.A., Robinson, M.R., Whitcup, S.M., Rosenbaum, J.T. Differential efficacy of tumor necrosis factor inhibition in the management of inflammatory eye disease and associated rheumatic disease. *Arthritis Rheum.* 2001; 45(3):252-257.
- 305) Schmeling H, Horneff G. Etanercept and uveitis in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* Aug 2005; 44(8):1008-1011.
- 306) Androudi S, Tsironi E, Kalogeropoulos C, Theodoridou A, Brazitikos P. Intravitreal adalimumab for refractory uveitis-related macular edema. *Ophthalmology.* Aug 2010; 117(8):1612-1616.
- 307) Farvardin M, Afarid M, Mehryar M, Hosseini H. Intravitreal infliximab for the treatment of sight-threatening chronic noninfectious uveitis. *Retina.* Oct 2010; 30(9):1530-1535.
- 308) Giraudo E, Primo L, Audero E, Gerber HP, Koolwijk P, Soker S et al. Tumor necrosis factor-alpha regulates expression of vascular endothelial growth factor receptor-2 and of its co-receptor neuropilin-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1998; 273(34): 22128–22135.
- 309) Hangai M, He S, Hoffmann S, Lim JI, Ryan SJ, Hinton DR. Sequential of angiogenic growth factors by TNF-a in choroidal endothelial cells. *J Neuroimmunol* 2006; 171: 45–56.

- 310) Markomichelakis NN, Theodosiadis PG, Sfikakis PP. Regression of neovascular age-related macular degeneration following infliximab therapy. *Am J Ophthalmol* 2005; 139: 537–540.
- 311) Lichtlen P, Lam TT, Nork TM, Streit T, Urech DM. Relative contribution of VEGF and TNF- α in the cynomolgus laserinduced CNV model: comparing the efficacy of bevacizumab, adalimumab, and ESBA105. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(9): 4738–4745.
- 312) Macias I, Garcia-Perez S, Ruiz-Tudela M, Medina F, Chozas N, Giron-Gonzalez JA. Modification of proand antiinflammatory cytokines and vascular-related molecules by tumor necrosis factor- α blockade in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32(11):2102–2108.
- 313) Canete JD, Pablos JL, Sanmarti R, Mallofre C, Marsal S, Maymo J et al. Antiangiogenic effects of anti-tumor necrosis factor alpha therapy with infliximab in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(5): 1636–1641.
- 314) Pedersen SJ, Hetland ML, Sorensen IJ, Ostergaard M, Nielsen HJ, Johansen JS. Circulating levels of interleukin-6, vascular endothelial growth factor, YKL-40, matrix metalloproteinase-3, and total aggrecan in spondyloarthritis patients during 3 years of treatment with TNF α inhibitors. *Clin Rheumatol* 2010; 29(11): 1301–1309.
- 315) Paroli MP, Teodori C, D'Alessandro M, Mariani P, Iannucci G, Paroli M. Increased vascular endothelial growth factor levels in aqueous humor and serum of patients with quiescent uveitis. *Eur J Ophthalmol*. 2007 Nov-Dec; 17(6):938-42.
- 316) Weiss K, Steinbrugger I, Weger M, Ardjomand N, Maier R, Wegscheider BJ, Wedrich A, El-Shabrawi Y. Intravitreal VEGF levels in uveitis patients and treatment of uveitic macular oedema with intravitreal bevacizumab. *Eye (Lond)*. 2009 Sep; 23(9):1812-8.
- 317) Charles P, Elliot MJ, Davis D, Potter A, et al. (1999): Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF alpha therapy in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 163:1521-1528.
- 318) Mastroianni A, Minutilli E, Mussi A, et al (2005): Cytokine profiles during infliximab monotherapy in psoriatic arthritis. *Br J Dermatol* 153:531-536.
- 319) Martinez-Borra J, Lopez-Larrea C, González S, et al. (2002): High serum tumor necrosis factor alfa levels are associated with lack of response to infliximab in fistulizing Crohn´s disease. *Gastroenterology* 97:2350-2356.
- 320) Caproni M, Antiga E, Melani L, et al. (2009): Serum levels of IL-17 and IL-22 are reduced by etanercept, but not by acitretin, in patients with psoriasis: a randomized-controlled trial. *J Clin Immunol* 29:210-214.

- 321) da Rocha LF Jr, Duarte AL, Dantas AT, et al (2012). Increased Serum Interleukin 22 in Patients with Rheumatoid Arthritis and Correlation with Disease Activity. *J Rheumatol* 39: 1320-1325.
- 322) Ke Y, Sun D, Jiang G, et al (2011): IL-22-induced regulatory CD11b APC suppress experimental autoimmune uveitis. *J Immunol* 187:2130-2139.
- 323) Li Z, Liu B, Maminishkis A, et al (2008): Gene expression profiling in autoimmune noninfectious uveitis disease. *J Immunol* 181:5147-5157.
- 324) Liang SC, Nickerson-Nutter C, Pittman DD, et al. (2010). IL-22 induces an acute-phase response. *J Immunol.* 185(9):5531-8.
- 325) Cai T, Wang Q, Zhou Q, Wang C, Hou S, Qi J, Kijlstra A, Yang P. Increased expression of IL-22 is associated with disease activity in Behcet's disease. *PLoS One.* 2013; 8(3):e59009.
- 326) Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Kawaguchi T, Horie S, Keino H, Takahashi M, Mochizuki M. Role of IL-22- and TNF- α -Producing Th22 Cells in Uveitis Patients with Behcet's Disease. *J Immunol.* 2013 Jun 1; 190(11):5799-808.
- 327) Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4 β T reg cells. *J Exp Med* 2006; 203(7): 1701–1711.
- 328) Gavin MA, Torgerson TR, Houston E, DeRoos P, Ho WY, Stray-Pedersen A et al. Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(17): 6659–6664.
- 329) Wang J, Ioan-Facsinay A, van der Voort EI, Huizinga TW, Toes RE. Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4 β T cells. *Eur J Immunol* 2007; 37(1):129–138.
- 330) Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4 β T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 2009; 30(6): 899–911.
- 331) Nadkarni S, Mauri C, Ehrenstein MR. Anti-TNF-alpha therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF-beta. *J Exp Med* 2007; 204(1): 33–39.
- 332) Caspi RR. A look at autoimmunity and inflammation in the eye. *J Clin Invest* 2010; 120(9): 3073–3083.
- 333) Cruz-González F, Cieza-Borrella C, López Valverde G, Lorenzo-Pérez R, Hernández-Galilea E, González-Sarmiento R. CFH (rs1410996), HTRA1 (rs112000638) and ARMS2 (rs10490923) Gene Polymorphisms are

Associated with AMD Risk in Spanish Patients. *Ophthalmic Genet.* 2013 (in Press).

- 334) Cruz-González F, Cieza-Borrella C, Cabrillo-Estévez L, Cañete-Campos C, Escudero-Domínguez F, González-Sarmiento R. VEGF A (rs699947 and rs833061) and VEGFR2 (rs2071559) Gene Polymorphisms are not Associated with AMD Susceptibility in a Spanish Population. *Curr Eye Res.* 2013 (in Press).

8- CONFLICTOS DE INTERESES.

El autor de esta tesis doctoral declara haber recibido dinero de laboratorios Abbvie (antes laboratorios Abbott) en concepto de seminarios, charlas y coloquios sobre el fármaco Adalimumab, utilizado en este trabajo.

No existe ningún otro conflicto de interés que afecte al autor de esta tesis con respecto al objeto de la misma, en ninguno de sus aspectos, fuera del anteriormente indicado.

9- ANEXOS

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

Con algunos de los datos obtenidos de la presente tesis se han elaborado los siguientes artículos científicos:

- 1) Cordero-Coma M, Yilmaz T, Onal S. Systematic Review of Anti-Tumor Necrosis Factor-alpha Therapy for Treatment of Immune-mediated Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2013 Feb;21(1):12-20.
- 2) Cordero-Coma M, Calleja S, Rodriguez E, Llorente M, Franco M, Ruiz de Morales JG. Serum cytokine profile in adalimumab-treated refractory uveitis patients: decreased IL-22 correlates with clinical responses.. *Ocul Immunol Inflamm.* 2013 2013 Jun;21(3):212-9 .
- 3) Calleja S, Cordero-Coma M, Rodriguez E, Llorente M, Franco M, Ruiz de Morales JG. Adalimumab specifically induces CD3(+) CD4(+) CD25(high) Foxp3(+) CD127(-) T-regulatory cells and decreases vascular endothelial growth factor plasma levels in refractory immuno-mediated uveitis: a non-randomized pilot intervention study.. *Eye (Lond).* 2012 Mar;26(3):468-77.
- 4) Díaz-Llopis M, Salom D, Garcia-de-Vicuña C, Cordero-Coma M, Ortega G, Ortego N, Suarez-de-Figueroa M, Rio-Pardo MJ, Fernandez-Cid C, Fonollosa A, Blanco R, Garcia-Aparicio AM, Benitez-Del-Castillo JM, Olea JL, Arevalo JF. Treatment of refractory uveitis with adalimumab: a prospective multicenter study of 131 patients.. *Ophthalmology.* 2012 Aug;119(8):1575-81.

ORIGINAL ARTICLE

Systematic Review of Anti-Tumor Necrosis Factor-alpha Therapy for Treatment of Immune-mediated Uveitis

Miguel Cordero-Coma, MD, FEBOph¹, Taygan Yilmaz, MPH², and Sumru Onal, MD, FEBOph³

¹Department of Ophthalmology, Hospital Universitario de León, Leon, Spain, ²Harvard Vanguard Associates, Department of Visual Services, Boston, Massachusetts, USA, and ³V. K. Foundation, American Hospital, Ophthalmology Department, Istanbul, Turkey

ABSTRACT

Purpose: To establish evidence-based recommendations regarding the use of anti-Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) agents for managing uveitis patients.

Methods: Medline was searched via OVID (1950 – October Week 3, 2011) using a Cochrane highly sensitive search (phases 1 and 2). Additional literature searches were also conducted including the following databases: the Cochrane, LILACS and the TRIP Database.

Results: A total of 54 studies met all of the inclusion criteria and were included in this review. A different level of recommendation and evidence is assigned to each anti-TNF- α agent. The overall rate of reported side effects with anti-TNF- α agents for the treatment of uveitis which required discontinuation of therapy was 2.2% (26/1147 patients).

Conclusion: Based on the evidence gathered, infliximab and adalimumab seem to be effective in the management of immune-mediated uveitis. Further randomized studies evaluating the efficacy of these agents are warranted. It is the most common cause of inflammatory eye disease, with an estimated prevalence of 115 cases per 100,000 persons.¹ Endogenous or associated with a systemic disease, noninfectious uveitis accounts for approximately 75% of total cases comprising of a heterogeneous group of inflammatory conditions responsible for about 10% of legal blindness in developed nations.^{1,2} Endogenous uveitides are thought to have an autoimmune component mediated by T lymphocytes specific to intraocular antigens that have failed to successfully pass basic processes designed to maintain self-tolerance.

KEYWORDS: Review, Treatment, Tumor necrosis factor-alpha, Uveitis

The term “uveitis” refers to a group of inflammatory disorders affecting the uvea, the vascular middle layer of the eye. The addition of immunomodulatory therapy (IMT) to the ophthalmologist’s therapeutic armamentarium has greatly benefited patients with severe sight-threatening uveitis and patients who are insufficiently controlled with or intolerant of systemic corticosteroids alone. Several classes of IMT agents, including antimetabolites, inhibitors of T-lymphocyte signaling, and alkylating agents, have been used in various populations with different results according to each subtype of agent. Biologics, another family of IMT, have also been used for treatment of uveitis, particularly in the last decade. Among the biologics, tumor necrosis factor- α (TNF- α) blockers have demonstrated promising results for the treatment of ocular inflammatory conditions, indicating the crucial

role of that cytokine in the genesis and perpetuation of autoimmune diseases affecting the eye. Since the first reported use of one of these anti-TNF- α agents, infliximab, several new agents, including etanercept and adalimumab, have also been used for the treatment of patients with different types of noninfectious uveitis.³ However, there is a lack of evidence-based recommendations regarding the use of these agents for managing uveitis patients. This is most likely related to the difficulty in conducting randomized controlled trials (RCTs) due to the small number of patients and profound clinical heterogeneity.

In this setting, it is of high interest for uveitis specialists throughout the world to have clear information about the results of previous studies regarding the safety and efficacy of these agents when used for treatment of uveitis. In light of this, the

Received 24 January 2012; revised 16 August 2012; accepted 17 August 2012

Correspondence: Miguel Cordero-Coma, MD, Hospital Universitario de León, c/ Altos de Nava s/n 24080, León, Spain.
E-mail: miguelcorderocom@gmail.com

authors have conducted a systematic review regarding the effectiveness and safety of anti-TNF- α agents in the treatment of immune-mediated uveitis.

MATERIALS AND METHODS

Databases, Search Terms, Limits, and Special Strategies

Medline was searched via OVID (1950–October Week 3, 2011) using a Cochrane highly sensitive search (phases 1 and 2) with separate searches utilizing the term *uveitis* in conjunction with one of the following associated terms: *adalimumab*, *etanercept*, *infliximab*, *golimumab*, or *certolizumab*. Additional literature searches were also conducted using the following databases: the Cochrane Library (Issue 7, 2011; searched up to July 2011) in addition to LILACS and the TRIP Database (up to 27 July 2011). No limits were used in these searches.

Additional Search Methods

The ClinicalTrials.gov registry, Google Scholar, and EMBASE (all up to 27 July 2011) were searched using the terms *anti-tumor necrosis factor-alpha* and *uveitis* as well as *adalimumab*, *etanercept*, *infliximab*, *golimumab*, or *certolizumab*. The references of germane articles and the meeting abstracts of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (1975–present) were reviewed manually.

Study Selection

Two authors (MC, TY) independently identified potentially relevant studies and evaluated each trial according to predetermined eligibility criteria. Studies were considered for inclusion if they assessed the use of a particular anti-TNF- α agent in patients with previously documented uveitis. Certain studies were included even if only part of the study's patient population met the inclusion criteria. Studies were excluded if they analyzed a specific agent in an opinion piece or a single case report. Studies were not limited based on country of origin or status of publication. The authors only included English-written studies. All subtypes of uveitis were included in the analysis. Analyzed outcome variables were recorded. No limitations on outcome measures were placed.

Data Collection

Two authors (MC, TY) used a standardized form to abstract data independently. Discrepancies were resolved by mutual review and consensus.

Methodological Quality Assessment of Included Studies

The Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence was employed in our analysis to assess the degree of study strength.⁴ Figure 1 represents a flow diagram providing an explanation of the evaluation method.

Summary of Evidence and Results of Search

Figure 1 is a flow diagram of all studies that were considered to be a part of the review. An extensive literature search yielded 579 studies, and 485 of these studies were excluded based on abstract review. Ninety-four studies were retrieved for more detailed review, of which 40 were excluded based on comprehensive full-text review. As the flow diagram indicates, a total of 54 studies met all of the inclusion criteria and were included in the review. A summary review of the present evidence can be found in Table 1. "The level of evidence" was the correspondent from the Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence in the May 2009 adaptation (10), which grades the studies on efficacy as follows: (1a) systematic reviews of randomized controlled trials with homogeneity; (1b) individual randomized controlled trials with narrow confidence intervals; (1c) trials in which all patients are cured or none are; (2a) systematic reviews of cohort studies with homogeneity; (2b) individual cohort study, or low-quality randomized controlled trials; (2c) "outcomes" research and ecological studies; (3a) systematic reviews of case-control studies with homogeneity; (3b) individual case-control study; (4) case-series and poor-quality cohort and case-control studies; and (5) expert opinion without explicit critical appraisal, or based on physiology, bench research, or "first principles." A Jadad quality assessment was conducted for open-label trials by assessing their methodologic quality. In our analysis, all such studies yielded a Jadad score of 0.

Table 2 summarizes side effects by drug. Table 3 summarizes the specific diagnoses of included patients. A total of 1224 patients from 10 of the included studies not meeting the inclusion criteria due to a lack of previous history of uveitis^{12,19,24,53,56,61,68,69,72} or treated with other non-TNF- α biologics²⁷ were excluded from the present study.

Report of clinical outcomes showed a profound lack of homogeneity, which makes difficult the comparison between included studies. Firstly, the degree of inflammation in treated eyes was established following disparately reported criteria (with differing concepts of what constituted "improvement," "worsening," "inefficacy," or "success"),^{5-8,10,11,87,88} which was not specified in 30% of the included studies. Secondly, a number of other immunosuppressive

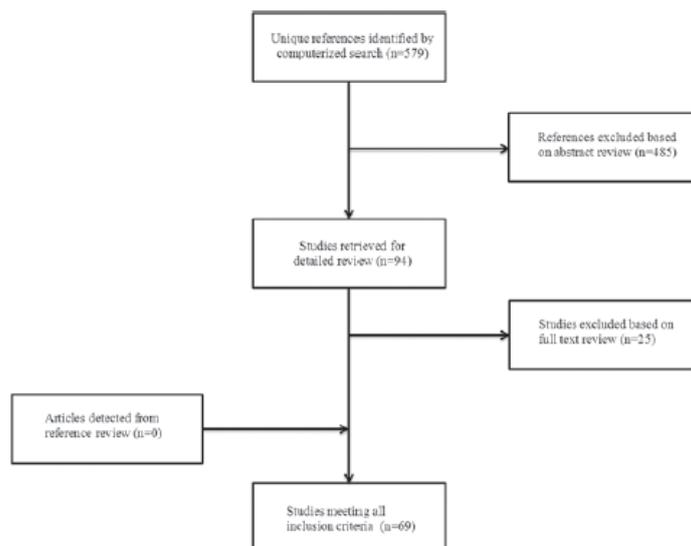


FIGURE 1 Flow diagram providing an explanation of the evaluation method.

TABLE 1 Summary table reviewing the present evidence.

Treatment	Conclusion	Recommendation	Evidence level
Adalimumab	Effective in autoimmune uveitis	C	2b
Certolizumab	Not evaluated in autoimmune uveitis	N/A	N/A
Etanercept	Ineffective in autoimmune uveitis	A	1b
Golimumab	Effective in autoimmune uveitis	C	4
Infliximab	Effective in autoimmune uveitis	C	2b

Note. The level of evidence was the correspondent from the Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence in the May 2009 adaptation,¹⁰ which grades the studies on efficacy as follows: (1a) systematic reviews of randomized controlled trials with homogeneity; (1b) individual randomized controlled trials with narrow confidence intervals; (1c) trials in which all patients are cured or none are; (2a) systematic reviews of cohort studies with homogeneity; (2b) individual cohort study, or low-quality randomized controlled trials; (2c) "outcomes" research and ecological studies; (3a) systematic reviews of case-control studies with homogeneity; (3b) individual case-control study; (4) case-series and poor-quality cohort and case-control studies; and (5) expert opinion without explicit critical appraisal, or based on physiology, bench research, or "first principles." N/A, not applicable.

agents (including systemic steroids) were concomitantly used at the study period (at least in any of the included patients) in all of the included studies. Changes in the immunosuppression load before and after treatment with anti-TNF- α agents were recorded

in 24% of included studies, although only one study assessed it with a semiquantitative scale.¹³ Control of uveitis, with no relapses, off-treatment with TNF- α agents was achieved in only 10 patients during the reported follow-up period.

RESULTS

Adalimumab

The study designs employed in investigating adalimumab included 3 open trials,^{12,13,23} 1 cross-sectional study,²² 1 prospective study,¹⁹ and 9 retrospective studies and/or case series.^{9,14} Four hundred and twenty patients with a host of diagnoses were analyzed. Table 3 summarizes the specific diagnoses of all included patients. Only certain patients were included from four analyzed papers since the rest did not fulfill inclusion criteria.^{12,19,24,27} From all included studies, 10 patients discontinued therapy during the follow-up period with a rate of discontinuation of 0.018 per patient/per year of follow-up time. The reasons for discontinuation are specified in Table 2. Three included studies did not specify the rates of discontinuation.^{12,19,26} Forty milligrams every 2 weeks was the reported dose of subcutaneous adalimumab in 70% of the studies. Different dosage-regimens were reported in 5 studies which were focused in pediatric patients.^{9,19-21,23} In these aforementioned studies the doses included 20–40 mg/1–2 weeks, 25 mg/m²/1–2 weeks, 0.4–1.5 mg/kg/1–2 weeks, 24 mg/m²/2 weeks, and 40 mg/m²/week, with a maximum dose of 40 mg once each week. The most

TABLE 2 Summary of side effects and percentages of discontinuation by drug.

TX	N (patients)	N (total discontinuations)	Reason for TX discontinuation	N (individual side effects)	Rates of discontinuation (discontinuations/patient included/per year of follow-up)
Adalimumab	420	10	Inefficacy	8	.018
			Liver enzyme elevation	1	
			Poor control of uveitis	1	
Infliximab	517	43	Inefficacy	13	.058
			Poor control of uveitis	9	
			Infusion reaction/delayed hypersensitivity	5	
			Active tuberculosis	3	
			Lupus-like syndrome	3	
			Leukopenia	2	
			Loss to F/U	2	
			Anticardilipin IgM-positive antibodies	1	
			Cutaneous rash	1	
			Pulmonary embolus	1	
			Patient preference	1	
			Relapse of atopic dermatitis	1	
			Etanercept	154	
Inefficacy	26				
Cellulitis of the forearm	1				
Cutaneous rash	1				
Injection difficulty	1				
Loss to F/U	1				
Esophagitis	1				
Poor compliance	1				
Retinal ablation	1				
Worsening of narcolepsy and cataplexy	1				
Golimumab	2	0	N/A	0	N/A
Intravitreal	15	3	Patient preference	2	N/A
			Loss to F/U	1	

Note. F/U, follow-up; IgM, immunoglobulin M; N, number; N/A, not applicable; TNF, tumor necrosis factor; TX, treatment.

frequently analyzed outcome variable in 76% of the included studies was the degree of ocular inflammation. Four of these works followed standardization of uveitis nomenclature (SUN)⁶ criteria for establishing the degree of ocular inflammation,^{13,15,20,23} three followed Foster et al.⁵ criteria,^{21,24,27} and the rest did not specify the criteria followed. Only 1 patient showed complete control of uveitis while being off-therapy during follow-up.²⁰ Best-corrected visual acuity (BCVA) before and after treatment was included in 35% of the studies, flare/relapse rate before and after treatment in 35% of the studies, and immunosuppression load before and after treatment in 23% of the studies. Other analyzed outcome measures included macular thickness,¹³ time to remission,²³ time to steroid discontinuation,²³ and composite index of response to treatment.²² The follow-up time from all included patients ranged from 8 weeks⁹ to 5 years.¹⁹

Infliximab

The evidence base for infliximab utilized in uveitis treatment was mainly derived from 4 open trials,^{23,28-31} 1 cross-sectional study,²² 12 prospective studies,^{3,32-39,41,45,71} and 33 retrospective studies and/or case series.^{40,42-44,46-59,61-66} A total of 517 patients who met all inclusion criteria were included. Table 3 summarizes the specific diagnoses of all included patients. From all included studies, 43 patients discontinued therapy during the follow-up period with a rate of discontinuation of 0.058 per patient per year of follow-up time. The reasons for discontinuation are specified in Table 2. One of the included studies did not specify the rates of discontinuation.²⁶ An induction dose of 5 mg/kg at weeks 0, 4, and 6, administered in 4- to 8-week intervals, depending on the clinical response, was the most frequent dosage regimen, reported in 51% of the included

TABLE 3 Summary of specific diagnoses in all included patients.

Disease	Adalimumab	Infliximab	Etanercept	Golimumab	Total
Adult-type vascular pseudotumor-associated uveitis	0	1	0	0	1
AS-associated uveitis	275	2	2	0	279
Behçet uveitis	28	224	2	0	254
BSRC	4	6	0	0	10
Crohn disease-associated uveitis	1	3	0	0	4
Idiopathic anterior uveitis	12	41	14	0	65
Idiopathic intermediate uveitis/pars planitis	3	26	2	0	30
Idiopathic posterior uveitis	3	12	0	1	16
Idiopathic panuveitis	5	19	1	0	25
JIA uveitis	76	126	117	1	316
MCP	0	1	0	0	1
Nonspecified spondyloarthropathy-associated uveitis	8	26	13	0	47
Psoriasis-associated uveitis	0	4	0	0	4
RA-associated uveitis	1	1	1	0	3
Sarcoid uveitis	2	15	0	0	17
SO	0	2	0	0	2
SLE-associated uveitis	0	0	2	0	2
VKH disease	2	8	0	0	10
Total	420	517	154	2	1093

Note. AS, ankylosing spondylitis; BSRC, birdshot retinochoroidopathy; JIA, juvenile idiopathic arthritis; MCP, multifocal choroiditis and panuveitis; RA, rheumatoid arthritis; SO, sympathetic ophthalmia; SLE, systemic lupus erythematosus; VKH, Vogt-Koyanagi-Harada.

studies. The rest of the included studies reported different doses, mostly varying from 3 to 10 mg/kg, with the exception of one study that reported unusually high doses of 10–20 mg/kg in each infusion.⁵⁰ In one study, the dose was not correlated with weight; fixed doses of 200 mg were used instead.⁵⁶ Two of the included studies evaluated the results of a single infusion.^{3,34} Among analyzed outcome variables, degree of ocular inflammation was analyzed in 73% of the included studies. Three of these works followed the SUN⁶ criteria for establishing the degree of ocular inflammation,^{23,44,61} 3 followed Foster *et al.*⁵ criteria,^{24,27,57} 3 followed Benezra *et al.*⁸⁷ criteria,^{36,49,50} 4 followed Nussenblatt *et al.*^{7,8} criteria,^{30,31,34,35,67} 3 followed Hogan *et al.*⁸⁸ criteria,^{34,37,47} 1 followed Rao *et al.* criteria,¹⁰ 1 followed Forrester *et al.* criteria,¹¹ 2 specified their own criteria,^{3,39} and the rest did not specify the criteria followed. Only 12 patients from 5 studies showed complete control of the uveitis while being off-therapy during the follow-up.^{28,40,44,45,59}

BCVA before and after treatment was analyzed in 77% of the included studies, flare-relapse rates before and after treatment in 30% of the studies, and immunosuppression load before and after treatment in 22% of the studies. Other analyzed outcome measures included a composite index of response to therapy,²² time to remission,^{23,41,69} time to steroid discontinuation,²³ glaucoma worsening,⁷⁰ serum concentrations of infliximab,^{29,43} macular thickness,³⁸ presence of neutralizing antibodies,⁴³ and levels of T-regulatory lymphocytes.⁴² The follow-up time ranged from 4 weeks³⁴ to more than 5 years.⁶¹

Etanercept

Two RCTs,^{70,75} 1 cross-sectional study,²² 1 prospective study,^{73,74} and 7 retrospective studies and/or case series^{22,25,26,67–70} have specifically addressed the efficacy of etanercept for treatment of non-infectious uveitis. A total of 154 patients who met all inclusion criteria were included in this review. Table 3 summarizes the specific diagnoses of all included patients. Thirty-four patients had to stop therapy with etanercept during the study period with a rate of discontinuation of 0.160% per patient/per year of follow-up time. The reasons for discontinuation are specified in Table 2. Of note, only 59 out of 267 patients were included from 3 analyzed papers as the rest did not fulfill the inclusion criteria.^{68,69,72} Twenty-five milligrams twice weekly was the maximum reported dose of subcutaneous etanercept in 45% of the studies. The rest of the studies reported other doses. The doses were not specified in two of the included studies.^{22,26} The most frequently analyzed outcome variable in 45% of the included studies was degree of ocular inflammation, with only two of these studies specifying the criteria followed for this purpose.^{67,73,74} Twenty-six patients had to discontinue therapy due to its inefficacy, with no patient showing complete control of uveitis while being off therapy during the follow-up period. BCVA before and after treatment was included in 45% of the studies, flare/relapse rates before and after treatment in 36% of the studies, and immunosuppression load before and after treatment in 36% of the studies. Other analyzed outcome

measures included a composite index of response to therapy,²² time to remission,⁶⁹ and evolution of preexisting glaucoma.⁷⁰ Follow-up time of included patients ranged from 6 to 42 months.⁷²

Golimumab

Only 1 case series including 2 patients (one with JIA-associated uveitis and another one with idiopathic retinal vasculitis) with a short follow-up of 6 and 7 months, respectively, has reported the potential benefits of golimumab for noninfectious uveitis.⁶⁰ The reported doses of golimumab were 50mg every 4 weeks.

Certolizumab

Our review indicated no use of certolizumab for the treatment of uveitis.

Intravitreal Anti-TNF-alpha Agents

Two studies (both were prospective noncomparative case series) including 15 patients were analyzed.^{61,62} One study used intravitreal adalimumab in patients with controlled uveitis and a range of associated diseases (Behcet-associated uveitis (2), JIA-associated uveitis (1), human leukocyte antigen (HLA)-B27 associated uveitis (2), sarcoidosis-associated uveitis (1), idiopathic panuveitis (1), idiopathic intermediate uveitis (1)) and concurrent CME.⁷⁷ The other study used intravitreal infliximab for the treatment of chronic refractory uveitis, including patients suffering from Behcet-associated uveitis (4 patients), JIA-associated uveitis (1), multifocal choroiditis and panuveitis (1), idiopathic uveitis (1).⁷⁸ Dose ranges were 0.5mg/0.05mL (first injection, baseline) and reinjections with an escalating dose of 1mg/0.05mL (months 1 and 2) for a total of 4 injections for intravitreal adalimumab, and 1.5mg/0.15mL in a unique injection for intravitreal infliximab. Outcome variables that were assessed included changes in BCVA from baseline to 3 and 6 months and changes in central retinal thickness (CRT) from baseline to 3 and 6 months for the adalimumab study (neither of them were statistically significant) and changes in BCVA from baseline, changes in CRT from baseline, and changes in vitreous haziness (all of these outcome variables were statistically significant) in the infliximab study. Three patients in the adalimumab study (2 because of patient's preference, 1 because of loss to follow-up), and none in the infliximab study discontinued therapy during the study period. Total follow-up time was 6 months in the adalimumab study and 1 month in the infliximab study.

DISCUSSION

Although these are preliminary data, this systematic review shows how treatment with infliximab and adalimumab seems to be effective for the treatment of noninfectious immune-mediated uveitis with a recommendation level of C and an evidence level of 2b, whereas treatment with etanercept seems to be ineffective with a recommendation level of A and an evidence level of 1b. The overall rate of reported side effects with anti-TNF- α agents for the treatment of uveitis was 2.2% (26 out of 1147 patients reported). These results are in line with previously reported studies on this matter.⁷¹ The lack of well-designed randomized clinical trials including a significant number of patients persists 4 years after the first systematic search on the use of anti-TNF- α agents for uveitis.

This review has several limitations, including poor design of trials, most of them being case series and poor-quality cohort and case-control studies, in addition to heterogeneity of the study variables. Lack of standardized methods to assess treatment efficacy for uveitis and variable treatment outcome measures also posed limitations in the evaluation of results of the current uveitis literature in general and of this study in particular. Another shortcoming is the variability of uveitis etiologies among patients included in most of the studies reviewed herein. Of note, the dose and frequency of administration for each individual anti-TNF- α agent also show great variability.

In current uveitis practice, biologics are usually used as second-line agents; however, there is an ongoing argument among uveitis specialists as to whether biologics should remain as second-line treatment or be considered as first-line therapy in the management of certain uveitic entities. This argument is based on the results of the current uveitis literature regarding the efficacy and safety of biologics in the management of uveitis. Our systematic review on a particular group of biologics (anti-TNF- α agents) has demonstrated that only infliximab and adalimumab are effective in the management of noninfectious immune-mediated uveitis with a medium level of evidence.

With regard to safety, long-term adverse effects, especially the occurrence of malignancies in patients receiving anti-TNF- α agents for uveitis has also not been studied to date. Because TNF exerts an important role in the pathobiology of cancer through its action on CD8 lymphocyte-mediated killing of tumor cells, an increase of malignancy occurrence has been considered as a possible adverse event of the TNF blockade. Results regarding this information could require revision in cancer screening procedures in clinical practice. The uveitis specialist may rely on the rheumatological literature with a varying degree of results.⁷²⁻⁷⁶ In a large-scale retrospective cohort study from the United States, the Systemic Immunosuppressive Therapy for Eye Diseases

cohort study has revealed a nearly fourfold increase in the risk of mortality caused by cancer in patients treated with TNF inhibitors for ocular inflammatory disease.⁷⁷ Although only 200 patients with a median follow-up of 2.8 years constituted the anti-TNF- α treated group of patients, such a result adds concerns about the use of these agents.

Another important issue regarding the use of anti-TNF- α agents is if this therapy could be discontinued at any time in those patients achieving control of their uveitis. Some included studies reflect that this option may be possible, although most of patients in these studies were on other concomitant immunomodulatory drugs at the time in which anti-TNF- α therapy was discontinued.^{14,28,32,47,68} In any case there is only preliminary evidence regarding this issue in other immune-mediated diseases than uveitis.⁷⁸

Some included studies analyzed new variables, which may help determine the reason for lack of efficacy of anti-TNF- α therapy in certain patients or the progressive loss of efficacy in some others.^{30,31} In this setting, the measurement of serum levels of anti-TNF- α agents and/or antibodies against these agents, which may explain a possible tachyphylactic phenomenon, seem to be a reasonable additional workup in the future management of patients treated with anti-TNF- α agents.

In an attempt to summarize the clinical efficacy, we consider infliximab and adalimumab as similar treatment options. Both should be considered as first-line therapy when a therapeutic approach with TNF- α inhibitors for treatment of immune-mediated uveitides has been chosen. They share a similar action profile but different routes of administration, immunogenic potential, and price and therefore reasons for using one or the other should be related to nonclinical issues associated with the patient. The clinical efficacy of golimumab and certolizumab needs to be demonstrated; thus, we consider these two drugs as only an alternative to those patients who have failed to respond to first-line TNF- α inhibitors. Finally, etanercept has shown poor results when used for treatment of uveitis and, as a result, should be considered ineffective for treatment of uveitis.

We believe that the results of this systematic review have implications for the routine management of uveitis patients given that it provides information on the level of evidence of the current medical literature concerning anti-TNF- α agents for uveitis. There is an obvious need for RCTs with standardized assessment methods to gather consistent evidence on the efficacy and safety of anti-TNF- α agents for the treatment of uveitis.

Declaration of interest: Miguel Cordero-Coma has received lecture fees (less than 10.000 USD from Abbott Laboratories). The rest of the authors do not have any proprietary interest in any aspect of the paper.

REFERENCES

- [1] Gritz DC, Wong IG. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; the Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology*. Mar 2004;111(3):491–500; discussion 500.
- [2] Wakefield D, Chang JH. Epidemiology of uveitis. *Int Ophthalmol Clin*. Spring 2005;45(2):1–13.
- [3] Sfikakis PP, Theodossiadis PG, Katsiari CG, Kaklamanis P, Markomichelakis NN. Effect of infliximab on sight-threatening panuveitis in Behcet's disease. *Lancet*. Jul 28 2001;358(9278):295–296.
- [4] Oxford Centre for Evidence-based Medicine. Levels of evidence. *BJU Int*. Mar 2009;104(11):1825.
- [5] Harper SL, Chorich LJ, Foster CS. Diagnosis of uveitis. In: Vitale A, ed. *Diagnosis and Treatment of Uveitis*. Philadelphia: WB Saunders; 2002:79–97.
- [6] Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT; Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data: results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol*. 2005 Sep;140(3):509–516.
- [7] Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, Roberge F. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology*. Apr 1985;92(4):467–471.
- [8] Nussenblatt RB, Whitcup SM, Palestine AG. Uveitis: fundamentals and clinical practice. In: Nussenblatt RB, Whitcup SM, Palestine AG, eds. *Examination of the Patient with Uveitis*. St. Louis: Mosby; 1996:58–68.
- [9] Biester S, Deuter C, Michels H, et al. Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood. *Br J Ophthalmol*. Mar 2007;91(3):319–324.
- [10] Rao NA, Forster DJ, Spalton DJ. The uvea: uveitis and intraocular neoplasms. In: Podos SM, Yanoff M, eds. *Anterior uveitis*, vol 2. New York: Gower Medical; 1992:1–19.
- [11] Forrester JV, Ben Ezra D, Nussenblatt RB, Tabbara KF, Timonen P. Grading of intermediate, posterior uveitis. In: Tabbara KF, Nussenblatt RB, eds. *Posterior Uveitis: Diagnosis and Management*. Boston: Butterworth-Heinemann; 1994:5–18.
- [12] Rudwaleit M, Rodevand E, Holck P, et al. Adalimumab effectively reduces the rate of anterior uveitis flares in patients with active ankylosing spondylitis: results of a prospective open-label study. *Ann Rheum Dis*. May 2009;68(5):696–701.
- [13] Diaz-Llopis M, Garcia-Delpech S, Salom D, et al. Adalimumab therapy for refractory uveitis: a pilot study. *J Ocul Pharmacol Ther*. Jun 2008;24(3):351–361.
- [14] Bawazeer A, Raffa LH, Nizamuddin SH. Clinical experience with adalimumab in the treatment of ocular Behcet disease. *Ocul Immunol Inflamm*. Jun 2010;18(3):226–232.
- [15] Callejas-Rubio JL, Sanchez-Cano D, Serrano JL, Ortego-Centeno N. Adalimumab therapy for refractory uveitis: a pilot study. *J Ocul Pharmacol Ther*. Dec 2008;24(6):613–614; author reply 614.
- [16] Calvo Catala J, Campos Fernandez C, Rueda Cid A, Gonzalez-Cruz Cervellera MI, Baixauli Rubio A, Pastor Cubillo MD. Efficacy of adalimumab in Behcet's disease: description of 6 cases. *Rheumatol Clin*. Jul-Aug 2011;7(4):258–261.
- [17] Dhingra N, Morgan J, Dick AD. Switching biologic agents for uveitis. *Eye (Lond)*. Sep 2009;23(9):1868–1870.
- [18] Mushtaq B, Saeed T, Situnayake RD, Murray PI. Adalimumab for sight-threatening uveitis in Behcet's disease. *Eye (Lond)*. Jun 2007;21(6):824–825.
- [19] Trachana M, Pratsidou-Gertsis P, Pardalos G, Kozeis N, Badouraki M, Kanakoudi-Tsakalidou F. Safety and efficacy of adalimumab treatment in Greek children with juvenile idiopathic arthritis. *Scand J Rheumatol*. Mar 2011;40(2):101–107.

- [20] Tynjala P, Kotaniemi K, Lindahl P, et al. Adalimumab in juvenile idiopathic arthritis-associated chronic anterior uveitis. *Rheumatology (Oxford)*. Mar 2008;47(3):339–344.
- [21] Vazquez-Cobian LB, Flynn T, Lehman TJ. Adalimumab therapy for childhood uveitis. *J Pediatr*. Oct 2006;149(4):572–575.
- [22] Foeldvari I, Nielsen S, Kummerle-Deschner J, et al. Tumor necrosis factor-alpha blocker in treatment of juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis refractory to second-line agents: results of a multinational survey. *J Rheumatol*. May 2007;34(5):1146–1150.
- [23] Simonini G, Taddio A, Cattalini M, et al. Prevention of flare recurrences in childhood-refractory chronic uveitis: an open-label comparative study of adalimumab versus infliximab. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. Apr 2011;63(4):612–618.
- [24] Huynh N, Cervantes-Castaneda RA, Bhat P, Gallagher MJ, Foster CS. Biologic response modifier therapy for psoriatic ocular inflammatory disease. *Ocul Immunol Inflamm*. May-Jun 2008;16(3):89–93.
- [25] Petropoulos IK, Vaudaux JD, Guex-Crosier Y. Anti-TNF-alpha therapy in patients with chronic non-infectious uveitis: the experience of Jules Gonin Eye Hospital. *Klin Monbl Augenheilkd*. May 2008;225(5):457–461.
- [26] Guignard S, Gossec L, Salliot C, et al. Efficacy of tumour necrosis factor blockers in reducing uveitis flares in patients with spondylarthropathy: a retrospective study. *Ann Rheum Dis*. Dec 2006;65(12):1631–1634.
- [27] Gallagher M, Quinones K, Cervantes-Castaneda RA, Yilmaz T, Foster CS. Biological response modifier therapy for refractory childhood uveitis. *Br J Ophthalmol*. Oct 2007;91(10):1341–1344.
- [28] Al-Rayes H, Al-Swailem R, Al-Balawi M, Al-Dohayan N, Al-Zaidi S, Tariq M. Safety and efficacy of infliximab therapy in active behcet's uveitis: an open-label trial. *Rheumatol Int*. Nov 2008;29(1):53–57.
- [29] Ohno S, Nakamura S, Hori S, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behcet's disease with refractory uveoretinitis. *J Rheumatol*. Jul 2004;31(7):1362–1368.
- [30] Suhler EB, Smith JR, Giles TR, et al. Infliximab therapy for refractory uveitis: 2-year results of a prospective trial. *Arch Ophthalmol*. Jun 2009;127(6):819–822.
- [31] Suhler EB, Smith JR, Wertheim MS, et al. A prospective trial of infliximab therapy for refractory uveitis: preliminary safety and efficacy outcomes. *Arch Ophthalmol*. Jul 2005;123(7):903–912.
- [32] Abu El-Asrar AM, Abboud EB, Aldibhi H, Al-Arfaj A. Long-term safety and efficacy of infliximab therapy in refractory uveitis due to Behcet's disease. *Int Ophthalmol*. Jun 2005;26(3):83–92.
- [33] Accorinti M, Pirraglia MP, Paroli MP, Priori R, Conti F, Pivetti-Pezzi P. Infliximab treatment for ocular and extraocular manifestations of Behcet's disease. *Jpn J Ophthalmol*. May-Jun 2007;51(3):191–196.
- [34] Arayssi T, Hamra R, Homeidan F, et al. The efficacy of a single dose of infliximab in the treatment of Behcet's disease uveitis. *Clin Exp Rheumatol*. May-Jun 2005;23(3):427.
- [35] Benitez-del-Castillo JM, Martinez-de-la-Casa JM, Pato-Cour E, et al. Long-term treatment of refractory posterior uveitis with anti-TNFalpha (infliximab). *Eye (Lond)*. Aug 2005;19(8):841–845.
- [36] Joseph A, Raj D, Dua HS, Powell PT, Lanyon PC, Powell RJ. Infliximab in the treatment of refractory posterior uveitis. *Ophthalmology*. Jul 2003;110(7):1449–1453.
- [37] Lindstedt EW, Baarsma GS, Kuijpers RW, van Hagen PM. Anti-TNF-alpha therapy for sight threatening uveitis. *Br J Ophthalmol*. May 2005;89(5):533–536.
- [38] Markomichelakis NN, Theodossiadis PG, Pantelia E, Papaefthimiou S, Theodossiadis GP, Sfikakis PP. Infliximab for chronic cystoid macular edema associated with uveitis. *Am J Ophthalmol*. Oct 2004;138(4):648–650.
- [39] Niccoli L, Nannini C, Benucci M, et al. Long-term efficacy of infliximab in refractory posterior uveitis of Behcet's disease: a 24-month follow-up study. *Rheumatology (Oxford)*. Jul 2007;46(7):1161–1164.
- [40] Niccoli L, Nannini C, Cassara E, Gini G, Lenzetti I, Cantini F. Efficacy of infliximab therapy in two patients with refractory Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol*. Nov 2009;93(11):1553–1554.
- [41] Sfikakis PP, Kaklamanis PH, Elezoglou A, et al. Infliximab for recurrent, sight-threatening ocular inflammation in Adamantiades-Behcet disease. *Ann Intern Med*. Mar 2 2004;140(5):404–406.
- [42] Sugita S, Yamada Y, Kaneko S, Horie S, Mochizuki M. Induction of regulatory T cells by infliximab in Behcet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Jan 2011;52(1):476–484.
- [43] Sugita S, Yamada Y, Mochizuki M. Relationship between serum infliximab levels and acute uveitis attacks in patients with Behcet disease. *Br J Ophthalmol*. Apr 2011;95(4):549–552.
- [44] Tugal-Tutkun I, Ayranci O, Kasapcopur O, Kir N. Retrospective analysis of children with uveitis treated with infliximab. *J AAPOS*. Dec 2008;12(6):611–613.
- [45] Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M, et al. Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behcet's disease: an open-label trial. *Arthritis Rheum*. Aug 2005;52(8):2478–2484.
- [46] Adan A, Hernandez V, Ortiz S, et al. Effects of infliximab in the treatment of refractory posterior uveitis of Behcet's disease after withdrawal of infusions. *Int Ophthalmol*. Oct 2010;30(5):577–581.
- [47] Ardoin SP, Kredich D, Rabinovich E, Schanberg LE, Jaffe GJ. Infliximab to treat chronic noninfectious uveitis in children: retrospective case series with long-term follow-up. *Am J Ophthalmol*. Dec 2007;144(6):844–849.
- [48] Bodaghi B, Bui Quoc E, Wechsler B, et al. Therapeutic use of infliximab in sight threatening uveitis: retrospective analysis of efficacy, safety, and limiting factors. *Ann Rheum Dis*. Jun 2005;64(6):962–964.
- [49] El-Shabrawi Y, Hermann J. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy with infliximab as an alternative to corticosteroids in the treatment of human leukocyte antigen B27-associated acute anterior uveitis. *Ophthalmology*. Dec 2002;109(12):2342–2346.
- [50] Kahn P, Weiss M, Imundo LF, Levy DM. Favorable response to high-dose infliximab for refractory childhood uveitis. *Ophthalmology*. May 2006;113(5):860–864 e862.
- [51] Khalifa YM, Bailony MR, Acharya NR. Treatment of pediatric vogt-koyanagi-harada syndrome with infliximab. *Ocul Immunol Inflamm*. Jun 2010;18(3):218–222.
- [52] Lanthier N, Parc C, Scavennec R, Dhote R, Brezin AP, Guillevi L. Infliximab in the treatment of posterior uveitis in Behcet's disease: long term follow up in four patients. *Presse Med*. Jul 23 2005;34(13):916–918.
- [53] Lopez-Gonzalez R, Loza E, Jover JA, et al. Treatment of refractory posterior uveitis with infliximab: a 7-year follow-up study. *Scand J Rheumatol*. Jan-Feb 2009;38(1):58–62.
- [54] Mansour AM. Infliximab treatment of posterior uveitis. *Ophthalmology*. Jan 2004;111(1):197–198; author reply 198.
- [55] Menghini M, Frimmel SA, Windisch R, Meier FM. Efficacy of infliximab therapy in two patients with sympathetic ophthalmia. *Klin Monbl Augenheilkd*. Apr 2011;228(4):362–363.
- [56] Murphy CC, Ayliffe WH, Booth A, Mankanjuola D, Andrews PA, Jayne D. Tumor necrosis factor alpha blockade with infliximab for refractory uveitis and scleritis. *Ophthalmology*. Feb 2004;111(2):352–356.
- [57] Rajaraman RT, Kimura Y, Li S, Haines K, Chu DS. Retrospective case review of pediatric patients with uveitis treated with infliximab. *Ophthalmology*. Feb 2006;113(2):308–314.

- [58] Richards JC, Tay-Kearney ML, Murray K, Manners P. Infliximab for juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Clin Exp Ophthalmol*. Oct 2005;33(5):461-468.
- [59] Sharma SM, Ramanan AV, Riley P, Dick AD. Use of infliximab in juvenile onset rheumatological disease-associated refractory uveitis: efficacy in joint and ocular disease. *Ann Rheum Dis*. Jun 2007;66(6):840-841.
- [60] Smith JA, Thompson DJ, Whitcup SM, et al. A randomized, placebo-controlled, double-masked clinical trial of etanercept for the treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. Feb 15 2005;53(1):18-23.
- [61] Sobrin L, Kim EC, Christen W, Papadakis T, Letko E, Foster CS. Infliximab therapy for the treatment of refractory ocular inflammatory disease. *Arch Ophthalmol*. Jul 2007;125(7):895-900.
- [62] Tabbara KF, Al-Hemidan AI. Infliximab effects compared to conventional therapy in the management of retinal vasculitis in Behcet disease. *Am J Ophthalmol*. Dec 2008;146(6):845-850 e841.
- [63] Tognon S, Graziani G, Marcolongo R. Anti-TNF-alpha therapy in seven patients with Behcet's uveitis: advantages and controversial aspects. *Ann N Y Acad Sci*. Sep 2007;1110:474-484.
- [64] Wang Y, Gaudio PA. Infliximab therapy for 2 patients with Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Ocul Immunol Inflamm*. Jul-Aug 2008;16(4):167-171.
- [65] Wechsler B, Sable-Fourtassou R, Bodaghi B, et al. Infliximab in refractory uveitis due to Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. Jul-Aug 2004;22(4 Suppl 34):S14-S16.
- [66] Katsiari CG, Theodossiadi PG, Kaklamanis PG, Markomichelakis NN, Sfikakis PP. Successful long-term treatment of refractory Adamantiades-Behcet's disease (ABD) with infliximab: report of two patients. *Adv Exp Med Biol*. 2003;528:551-555.
- [67] Tynjala P, Lindahl P, Honkanen V, Lahdenne P, Kotaniemi K. Infliximab and etanercept in the treatment of chronic uveitis associated with refractory juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis*. Apr 2007;66(4):548-550.
- [68] Smith JR, Levinson RD, Holland GN, et al. Differential efficacy of tumor necrosis factor inhibition in the management of inflammatory eye disease and associated rheumatic disease. *Arthritis Rheum*. 2001;45(3):252-257.
- [69] Galor A, Perez VL, Hammel P, Lowder CY. Differential effectiveness of etanercept and infliximab in the treatment of ocular inflammation. *Ophthalmology*. Dec 2006;113(12):2317-2323.
- [70] Saurenmann RK, Levin AV, Feldman BM, et al. Prevalence, risk factors, and outcome of uveitis in juvenile idiopathic arthritis: a long-term followup study. *Arthritis Rheum*. Feb 2007;56(2):647-657.
- [71] Yamada Y, Sugita S, Tanaka H, Kamoi K, Kawaguchi T, Mochizuki M. Comparison of infliximab versus ciclosporin during the initial 6-month treatment period in Behcet disease. *Br J Ophthalmol*. Mar 2010;94(3):284-288.
- [72] Schmeling H, Horneff G. Etanercept and uveitis in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. Aug 2005;44(8):1008-1011.
- [73] Reiff A. Long-term outcome of etanercept therapy in children with treatment-refractory uveitis. *Arthritis Rheum*. Jul 2003;48(7):2079-2080.
- [74] Reiff A, Takei S, Sadeghi S, et al. Etanercept therapy in children with treatment-resistant uveitis. *Arthritis Rheum*. Jun 2001;44(6):1411-1415.
- [75] Foster CS, Tufail F, Waheed NK, et al. Efficacy of etanercept in preventing relapse of uveitis controlled by methotrexate. *Arch Ophthalmol*. Apr 2003;121(4):437-440.
- [76] Cordero-Coma M, Salom D, Diaz-Llopis M, Lopez-Prats MJ, Calleja S. Golimumab for uveitis. *Ophthalmology*. Sep 2011;118(9):1892 e1893-e1894.
- [77] Androudi S, Tsironi E, Kalogeropoulos C, Theodoridou A, Brazitikos P. Intravitreal adalimumab for refractory uveitis-related macular edema. *Ophthalmology*. Aug 2010;117(8):1612-1616.
- [78] Farvardin M, Afarid M, Mehryar M, Hosseini H. Intravitreal infliximab for the treatment of sight-threatening chronic non-infectious uveitis. *Retina*. Oct 2010;30(9):1530-1535.
- [79] Pato E, Munoz-Fernandez S, Francisco F, et al. Systematic review on the effectiveness of immunosuppressants and biological therapies in the treatment of autoimmune posterior uveitis. *Semin Arthritis Rheum*. Feb 2011;40(4):314-323.
- [80] Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA*. May 17 2006;295(19):2275-2285.
- [81] Fleischmann R, Baumgartner SW, Weisman MH, Liu T, White B, Peloso P. Long term safety of etanercept in elderly subjects with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. Mar 2006;65(3):379-384.
- [82] Jacobsson LT, Turesson C, Nilsson JA, et al. Treatment with TNF blockers and mortality risk in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. May 2007;66(5):670-675.
- [83] Setoguchi S, Solomon DH, Weinblatt ME, et al. Tumor necrosis factor alpha antagonist use and cancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. Sep 2006;54(9):2757-2764.
- [84] Wolfe F, Michaud K. Biologic treatment of rheumatoid arthritis and the risk of malignancy: analyses from a large US observational study. *Arthritis Rheum*. Sep 2007;56(9):2886-2895.
- [85] Kempen JH, Daniel E, Dunn JP, et al. Overall and cancer related mortality among patients with ocular inflammation treated with immunosuppressive drugs: retrospective cohort study. *BMJ*. 2009;339:b2480.
- [86] D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PD, et al. The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD with the European Crohn's and Colitis Organization: when to start, when to stop, which drug to choose, and how to predict response? *Am J Gastroenterol*. Feb 2011;106(2):199-212; quiz 213.
- [87] BenEzra D, Forrester JV, Nussenblatt RB, et al. *Uveitis Scoring System*. Berlin: Springer Verlag;1991:4-5.
- [88] Hogan MJ, Kimura SJ, Thygeson P. Signs and symptoms of uveitis. *Am J Im-Ophthalmol*. 1959;47:155-170.

ORIGINAL ARTICLE

Serum Cytokine Profile in Adalimumab-treated Refractory Uveitis Patients: Decreased IL-22 Correlates with Clinical Responses

Miguel Cordero-Coma¹, Sara Calleja², Milagros Llorente², Esther Rodriguez¹, Manuel Franco¹, and Jose G. Ruiz de Morales^{2,3}

¹Ophthalmology Department and ²Clinical Immunology Department, Complejo Hospitalario Universitario de León, León, Spain, and ³Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León, León, Spain

ABSTRACT

Purpose: To report the effect of adalimumab on serum cytokines in chronic refractory uveitis.

Methods: Prospective study on the effects of adalimumab on serum cytokine levels at different time points in a cohort of 12 refractory chronic uveitis patients. Results were analyzed according to clinical outcomes and compared with systemic steroid-treated recurrent uveitis patients.

Results: Before treatment, patients exhibited significantly increased IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-12 p70, IL-10, and IL-22. Adalimumab significantly decreased IL-6, and IL-12p70 at early time points (after 1 month of treatment). Adalimumab effects on IL-10 and IL-22 appeared later (after 6 months of treatment). IL-1 β , IL-17A, and TNF α were not modified at any time point. Only decreased IL-22 serum levels correlated with disease activity ($p=0.011$). These effects were not observed in steroid-treated patients.

Conclusions: Adalimumab induced drug-specific and time-dependent declines in serum levels of particular cytokines, although only IL-22 correlated with disease activity in 10 out of 12 patients.

Keywords: Adalimumab, anti-TNF, cytokines, interleukin-22, serum, uveitis

Noninfectious immune-mediated uveitides may appear isolated (endogenous uveitis) or associated with a systemic disease. When associated with a systemic disease, ocular inflammation does not always correlate with systemic clinical and/or immunological activity.¹ Common inflammatory biomarkers, i.e., C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), and serum amyloid A (SAA), are not suitable for uveitis follow-up.^{2,3}

Several proinflammatory cytokines have been involved in the pathogenesis of noninfectious immune-mediated uveitides and their complications.^{4–6} Elevated levels of ocular IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-23 have been readily detected and sometimes related to different forms of uveitis.^{7–11} The contribution of circulating cytokines to uveitis is uncertain. Raised TNF α , IL-1 β , VEGF, and, more

recently, IL-17 and IL-22 serum levels have been related to blood–retinal barrier breakdown.¹² Raised serum levels of TNF α ,¹³ IL-6,¹⁴ IL-8,¹⁵ IL-17,¹⁶ IL-21,¹⁷ and IL-23,^{16,18} have been described to correlate with ocular inflammatory activity in different uveitis clinical entities. However, clear conclusions on the relationship between ocular and plasma cytokine levels have not yet emerged.¹⁹

Among inflammatory cytokines, TNF α is recognized as an important mediator of the ocular tissue damage observed in experimental autoimmune uveitis.²⁰ Anti-TNF α agents are emergent drugs in the treatment of refractory uveitides, but their use remains mostly “off-label.”²¹ They have been demonstrated to downmodulate local and systemic inflammatory mediators, resulting in a remarkable clinical anti-inflammatory efficacy in selected uveitis

Received 22 November 2012; revised 21 January 2013; accepted 23 January 2013; published online 25 March 2013

Correspondence: Jose G. Ruiz de Morales, MD, PhD, Department of Clinical Immunology, Complejo Hospitalario Universitario de León, Altos de Nava s/n. 24080-León, Spain. E-mail: jgarcir@gmail.com

TABLE 1. Characteristics of the patients before treatment with adalimumab.

Patient ID	Age	Sex	Diagnosis	Systemic disease activity	OCT/FA grade ^a	AC Infl/Vitr Infl
1	58	M	Idiopathic granulomatous panuveitis	N/A	1	Active/Active
2	27	F	Anterior nongranulomatous uveitis, AS	Active	0	Active/Inactive
3	18	M	Nongranulomatous panuveitis, VKH	Inactive	2	Active/Active
4	34	M	Nongranulomatous panuveitis, BD	Active	2	Active/Active
5	48	M	Nongranulomatous panuveitis, BD	Inactive	2	Inactive/Active
6	58	F	Nongranulomatous panuveitis, SLE	Inactive	1+2	Active/Active
7	36	M	Anterior nongranulomatous uveitis, SpA	Inactive	0	Active/Inactive
8	14	F	Anterior nongranulomatous uveitis, JIA	Inactive	0	Active/Inactive
9	31	M	Anterior nongranulomatous uveitis, JIA	Active	0	Active/Inactive
10	28	F	Anterior nongranulomatous uveitis, JIA	Active	1	Active/Inactive
11	49	M	Intermediate nongranulomatous uveitis, AS	Inactive	1+2	Active/Inactive
12	33	M	Intermediate nongranulomatous uveitis, AS	Active	2	Active/Active

BD, Behçet disease; AS, ankylosing spondylitis; SpA, spondyloarthritis; JIA, juvenile idiopathic arthritis; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; VKH, Vogt-Koyanagi-Harada; N/A, not applicable; OCT, optical coherence tomography; FA, fluorescein angiography.

^aOCT/FA grading: 0, no signs of inflammation; 1, cystoid macular edema; 2, vasculitis; 1+2, CME+vasculitis. AC Infl/Vitr Infl, anterior chamber inflammation/vitreous inflammation.

patients.²² In addition, they might also exert an immunoregulatory role,²³ but it is currently unknown whether they can modify the natural history of disease in uveitis.²⁴ In clinical practice, once TNF α -blockade is initiated and clinical relief achieved, it is uncertain when therapy should be best discontinued to achieve drug's maximum effects.

Although it has been extensively studied in several immune-mediated diseases, reports on the biological systemic effects of TNF α blockade in uveitis patients are lacking. In this paper we investigated the effects of a subcutaneous anti-TNF α drug (adalimumab) on serum levels of different cytokines in a heterogeneous group of refractory uveitis patients. Since ocular fluids cannot be routinely obtained for uveitis follow-up, we reasoned that description of changes in serum biomarker profiles affected by anti-TNF therapies might be useful for disease monitoring, and might help to decide when therapy could be halted.

MATERIAL AND METHODS

Design

This was a prospective study on the systemic biological effects of adalimumab in 12 patients with chronic refractory—nonresponsive to conventional treatment—and active uveitis patients in comparison to 10 patients with recurrent active uveitis treated with prednisone. Cytokines were measured in serum before (t0), and after 1 month of therapy (t1) in both groups, and after 6 months (t2) in the adalimumab group. Results were compared with samples from 25 nonuveitic controls and analyzed in the context of ophthalmologic outcomes.

Patients

Twelve patients (19 eyes) with active chronic uveitis (lasting at least 6 months) unresponsive to first-line systemic treatment were included (adalimumab group). Detailed diagnosis and clinical data from these patients are shown in Table 1 and have been further described elsewhere.²⁴ Forty milligrams of subcutaneous adalimumab (Humira) every 14 days was administered as rescue therapy without modifications throughout the 6-month study period. None of the patients had received systemic or regional corticosteroids within the last 30 days before starting adalimumab. Adalimumab was the only drug used in 9 patients, and was used alongside previous immunosuppressors in 3 (patients 3, 4, and 9). All patients completed the study period without serious adverse effects.

Ten additional patients with active recurrent uveitis who had not previously received any systemic treatment for their condition were selected for comparison and treated with systemic steroids (steroid group). This group included 5 endogenous idiopathic uveitis (3 anterior, 1 intermediate, 1 panuveitis) patients and 5 patients with uveitis associated with a systemic disease (4 anterior, 1 intermediate). All patients had had at least one previous episode of uveitis during the last 12 months that had been treated with local or intraocular steroids. All of them were now switched in the present flare to prednisone at an initial dosage of 1 mg/kg/day, and slowly tapered according to disease activity. Prednisone could be withdrawn after 30 days in 8 patients. Two patients continued receiving small doses of prednisone (<10 mg) for 2 additional months. In addition, 25 age-matched nonuveitic patients from our ophthalmology clinic were used for comparisons.

Informed consent was obtained from the participants. All the procedures were specifically approved by the hospital's ethics committee and followed the tenets of the Declaration of Helsinki.

Clinical Evaluation

Uveitis clinical evaluation and follow-up was performed according to previously reported standards.²⁵ All patients in the adalimumab group responded favorably after 1 month of treatment: 8/12 patients showed fully inactive uveitis, 3/12 improved activity, and 1/12 (patient 10) remained active at t1. After 3 months of treatment, all patients had their uveitis under control. However, relapses occurred in 2 patients later on while still on adalimumab. In the steroid group, all patients were inactive after 3 months of treatment.

For proper statistical analysis we arbitrarily established a modified SUN uveitis activity scoring system as follows: "active uveitis," score 2, is always the individual starting inflammatory point before treatment (t0); "partial improvement," score 1, includes any combination of a two-step decrease in the level of inflammation in either anterior chamber cells or vitreous haze, plus improvement in OCT and/or vasculitis disappearance, but with inflammation still present; "inactive uveitis," score 0, is no cells in both anterior and/or posterior segment in addition to absence of other signs of intraocular inflammation (CME and vasculitis).

Immunological Workup

Serum samples from the adalimumab and the steroid groups were studied before treatment (t0) and after 1 month of treatment (t1). Serum samples from the adalimumab group were also obtained after 6 months of treatment (t2).

Two aliquots of serum from patients and controls were immediately frozen at -70°C until later use. To minimize for intra- and interexperiment variations, one aliquot from each patient or control was run in duplicate within the same assay and replicated in a different assay with the remaining aliquot. Interassay variability was less than 15%. Mean values from both runs were used. The following cytokines were studied: IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL22, and TNF α . All cytokines but IL-22 were measured by means of cytometric bead array technology (CBA) (Becton-Dickinson, USA), acquired in an FACSCanto cytometer, and analyzed with FCAP Array software (Becton-Dickinson, USA). Limits of detection were 7.2 pg/mL for IL-1 β , 2.5 pg/mL for IL-6, 3.3 pg/mL for IL-10, 1.9 pg/mL for IL-12p70, 5.4 pg/mL for IL-17A, and 3.7 pg/mL for TNF α . IL-22 was measured

by ELISA (R&D Systems, Minneapolis, USA) and the limit of detection was 2.7 pg/mL. For statistical purposes, values below detection level were considered as 1 pg/mL. In addition, conventional inflammatory biomarkers such as serum amyloid A (SAA) (Nephelometry, Siemens, detection limit 0.28 mg/L), and high-sensitivity C-reactive protein (CRP) (Immunoturbidimetry, Roche, detection limit 0.15 mg/L) were measured.

Statistical Analysis

All the variables were analyzed with SPSS v17.0. Continuous variables were expressed as medians and interquartile ranges. Nonparametric tests were used for analysis. Differences between groups for quantitative variables were assessed by Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests. Wilcoxon test was used when paired samples were compared. Rank-based tests using Spearman's correlations were used to test for correlations among continuous variables. The repeated measures a general linear model was used to analyze correlations among continuous or discrete variables. A two-tail p value <0.05 was selected to reject the null hypothesis.

RESULTS

Before treatment (t0), uveitis patients had increased serum cytokine levels as compared with nonuveitic controls, but there were no differences between adalimumab-treated patients and steroid-treated patients

Serum levels of a selected panel of previously reported uveitis-relevant cytokines were measured in 22 chronic uveitis patients and in 25 nonuveitic controls. Before treatment, 8 out of 22 patients were considered to have clinical systemic activity (Table 1). In comparison with controls, chronic uveitis patients showed basal (t0 time point) increased median values of IL-1 β (24.3 vs. 2.25 pg/mL, $p=0.006$), IL-6 (23.5 vs. 4.22 pg/mL, $p=0.004$), IL-10 (18.53 vs. 1.3 pg/mL, $p=0.01$), TNF α (12.04 vs. 1.11 pg/mL, $p=0.008$), IL-12 (18.02 vs. 3.53 pg/mL, $p=0.003$), and IL-22 (16 vs. 3.5 pg/mL, $p<0.001$) (Figure 1). Median IL-17A serum levels were not found to be increased in our selected uveitis patients compared with nonuveitic controls. On an individual basis, IL-22 was the only cytokine that was increased in every single patient.

Since we next selected patients for either adalimumab (12 patients) or systemic steroids (10 patients), we checked for cytokine bias in a patient's selection. There were no significant basal differences (t0) among adalimumab and steroid-treated groups in any cytokine (data not shown).

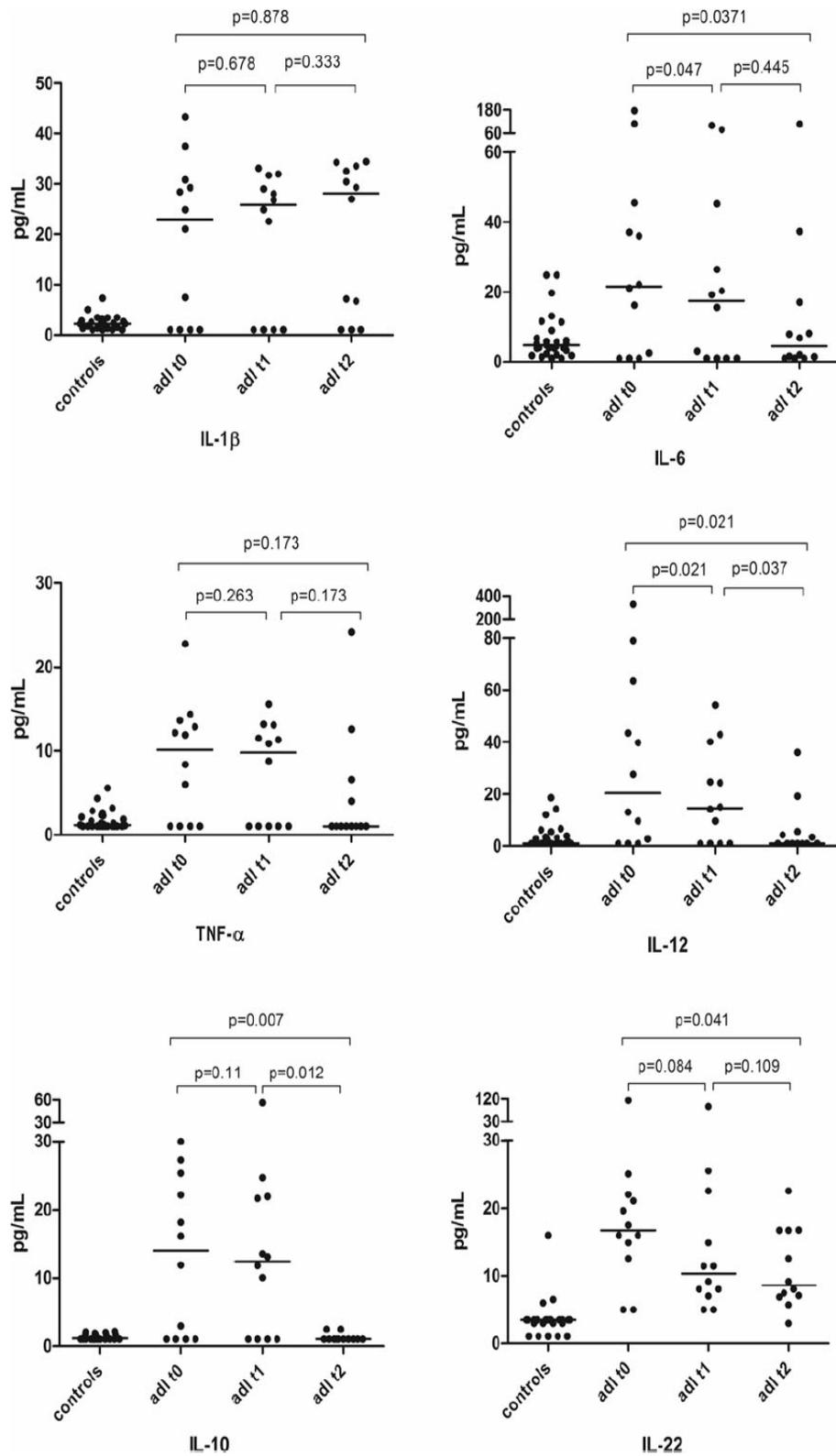


FIGURE 1. Individual and median serum cytokine levels in 25 normal controls and 12 refractory uveitis patients selected for adalimumab treatment at different time points (adl t0): before treatment; (adl t1): after 4 weeks; (adl t2) after 6 months of treatment. P are Wilcoxon's test. Every single depicted cytokine median at t0 was significantly raised in the uveitis group in comparison with healthy controls, as specified in Results.

TABLE 2. Effect of adalimumab or systemic steroids in serum cytokine levels and acute-phase reactants in uveitis patients.

Biomarker	Adalimumab-treated group					Steroid-treated group		
	t0*	t1	t2	<i>p</i> (t0-t1)**	<i>p</i> (t1-t2)**	t0*	t1	<i>p</i> (t0-t1)**
IL-1 β	22.97 (30.44)	25.83 (31.06)	28.16 (31.64)	<i>p</i> = 0.678	<i>p</i> = 0.333	24.30 (3.11)	24.11 (6.36)	<i>p</i> = ns
IL-6	21.56 (42.68)	17.41 (40.48)	4.42 (14.42)	<i>p</i> = 0.047	<i>p</i> = 0.445	24.77 (20.12)	29.90 (11.54)	<i>p</i> = ns
IL-10	14.02 (24.50)	12.46 (21.85)	1 (1)	<i>p</i> = 0.110	<i>p</i> = 0.012	19.01 (6.64)	18.32 (9.07)	<i>p</i> = ns
IL-12p70	20.30 (57.77)	14.65 (36.25)	1 (5.29)	<i>p</i> = 0.021	<i>p</i> = 0.037	18.03 (15.02)	20.06 (11.84)	<i>p</i> = ns
IL-17A	5.6 (3.17)	5.29 (3.1)	5.13 (3.36)	<i>p</i> = 0.117	<i>p</i> = 0.937	5.36 (3.47)	5.83 (3.13)	<i>p</i> = ns
IL-22	16.73 (8.63)	10.29 (9.35)	8.57 (9.81)	<i>p</i> = 0.084	<i>p</i> = 0.109	16 (11.68)	12.97 (2.37)	<i>p</i> = ns
TNF- α	10.14 (13.41)	9.83 (12.66)	1 (5.94)	<i>p</i> = 0.263	<i>p</i> = 0.173	12.81 (5.65)	12.22 (4.05)	<i>p</i> = ns
CRP	2.1 (4.08)	1.15 (2.2)	1 (0.59)	<i>p</i> = 0.398	<i>p</i> = 1	1.83 (8.55)	1.3 (5.33)	<i>p</i> = ns
SAA	3.85 (4.55)	2.8 (3.8)	2.25 (8.53)	<i>p</i> = 0.306	<i>p</i> = 0.638	5.5 (12.8)	4.4 (5.55)	<i>p</i> = ns

Results are median pg/mL and interquartile range. Values below detection limit were considered 1 pg/mL.

p* t0 adalimumab vs. t0 steroids = ns for all biomarkers (Mann-Whitney, not shown); *p*, paired samples (Wilcoxon).

Inasmuch as our uveitis patients included endogenous as well as uveitis associated with systemic diseases, we next wished to rule out any cytokine masking due to systemic disease activity. No differences were found in median basal (t0) serum levels of routinely used systemic inflammatory biomarkers, i.e., CRP and SAA, between adalimumab and steroid-treated patients (Table 2). Moreover, although some patients (5/12 in the adalimumab group and 3/10 in the steroid group) had clinically active systemic disease at t0, median CRP and SAA levels were not statistically different between groups.

Adalimumab-treated, but not steroid-treated, uveitis patients showed time-dependent changes in serum levels of various cytokines

We next studied the effects of adalimumab or systemic steroids on serum levels of different cytokines in chronic uveitis patients. In the adalimumab group at t1 (day 30, after two rounds of treatment, 80 mg total adalimumab dosage), median serum levels of IL-6 (21.56 vs. 17.41 pg/mL, *p* = 0.047) and IL-12p70 (20.30 vs. 14.65 pg/mL, *p* = 0.021) significantly decreased when compared with basal t0 values (Table 2). Median IL-22 serum levels decreased but did not reach significant values (16.73 vs. 10.29 pg/mL, *p* = 0.084). At t2 (day 180, after 12 rounds of treatment, 480 mg total adalimumab dosage) median serum levels of IL-12p70 further decreased when compared with t1 (14.65 vs. 1 pg/mL, *p* = 0.037). IL-6 remained at similar lower levels when compared with t0. In addition, at this late t2 time point, median levels of IL-10 (14.02 vs. 1 pg/mL, *p* = 0.012) and IL-22 (16.73

vs. 8.57 pg/mL, *p* = 0.041) were now also significantly decreased when compared with t0. We did not observe significant changes in IL-1 β , IL-17A, and TNF α throughout the study. When analyzing if there was correlation between the cytokines modified by adalimumab, we only observed a direct correlation between IL-6 and IL-12 at t0 and t1 (Pearson ρ = 0.90, *p* < 0.0001 and ρ = 0.94, *p* < 0.0001), but not at t2 (Pearson ρ = 0.28) (data not shown).

To ascertain if these effects were adalimumab-specific, we compared these results with those obtained in 10 recurrent active uveitis patients first switched to systemic steroids. Similarly to adalimumab-treated patients, corticosteroids were rapidly clinically effective in 8 out of 10 patients, with only 2 patients requiring low corticosteroids up to 3 months. As observed in Table 2, steroid-treated patients showed no significant serum changes in any cytokine. Therefore, effects on serum cytokines at t1 seem to be adalimumab-specific. Because corticosteroid could be withdrawn in all patients after 3 months and the majority were not available for further follow-up, t2 sera from this group are lacking.

Do cytokine changes observed in adalimumab-treated patients correlate with uveitis clinical activity?

To analyze if adalimumab-induced serum cytokine changes were associated with uveitis clinical activity we categorized adalimumab-treated patients as active (score 2), partially active (score 1), and fully inactive (score 0), as previously specified under Material and Methods. Median cytokine serum levels at three

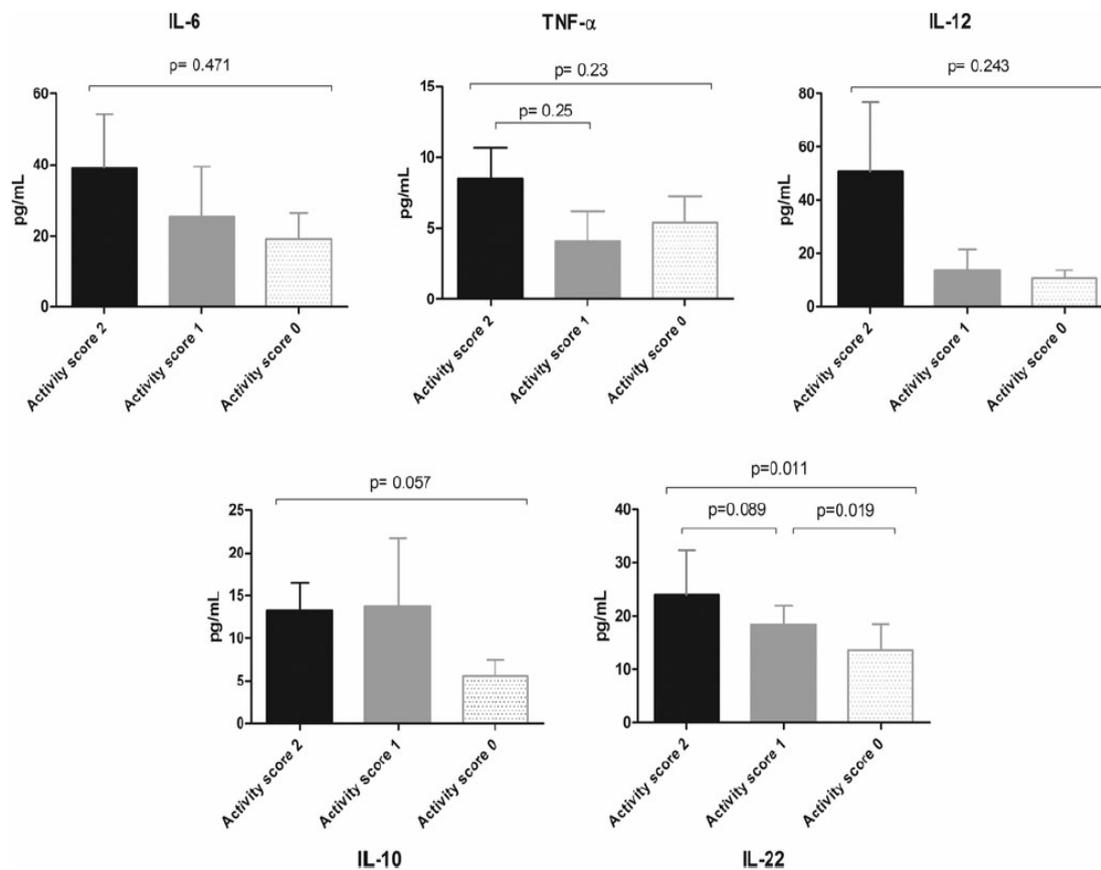


FIGURE 2. Correlation between serum cytokine levels and ocular disease activity in adalimumab-treated patients. Individual index of clinical activity were plotted against its corresponding cytokine levels in all adalimumab-treated patients. Activity score 2 is always the maximum inflammation at the starting point before treatment (t0) in every single patient; activity score 1 is clinical partial improvement; and activity score 0 is inactive uveitis, as detailed in Material & Methods. The repeated measures general linear model was used to analyze correlations, but Kruskal-Wallis diagrams are showed here to simplify, as stated in Results.

different time points, t0, t1 and t2, were plotted against clinical activity scores. Despite a clear trend toward lower IL-6 and IL-12 as disease activity decreased (Figure 2), a statistically significant value was only reached with IL-22 ($p=0.011$, Kruskal-Wallis). However, because interindividual serum cytokine variability might render median values inappropriate to search for a true clinical association, we also applied the repeated measures general linear model. Again, we only found correlation between uveitis activity index and IL-22. In an intraindividual analysis IL-22 levels did not correlate with disease activity in patients 6 (SLE) and 9 (JIA) solely. Noteworthy, after 6 months of treatment, IL-22 did not return to nonuveitic values in most patients.

DISCUSSION

In this study we wished to specifically address the effects of adalimumab on serum cytokine levels in a heterogeneous group of chronic uveitis patients.

Before treatment, a cytokine profile characterized by increased IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IL-12, and IL-22 serum levels was observed. We found that uveitis patients switched to adalimumab, but not uveitis patients first switched to systemic steroids, showed a time-dependent signature in serum cytokine profile. After adalimumab treatment, the proinflammatory IL-6 and IL-12 were early downmodulated after two injections, and remained at low levels during the entire 6 months of follow-up. Moreover IL-22 also showed a clear early descending trend, but did not achieve statistical significance, perhaps because the small sample size. However, IL-22 and also the immunoregulatory IL-10 were significantly downmodulated at later time points. Surprisingly, TNF α , IL-1 β , and IL-17A—some of the most proinflammatory pivotal and pathogenic cytokines—were not significantly downmodulated at any time point, despite adalimumab's true clinical efficacy. The low baseline levels for these cytokines might be a likely explanation. Since most patients showed favorable clinical responses, it also points toward a direct

local adalimumab mechanism of action, suggesting that serum cytokine levels do not mirror ocular levels. In fact, similar lack of correlation among TNF- α serum levels and clinical improvement has been reported in different systemic anti-TNF-responsive diseases.^{26–28}

Therefore, what is the meaning of this adalimumab's specific signature? Is it just a laboratory phenomenon or does it have clinical significance? Is it useful in the follow-up of refractory uveitis patients? Although adalimumab induced an IL-6 and IL-12 sustained decline, correlation with uveitis clinical activity was only observed with IL-22. Interestingly, IL-22 was the only cytokine raised above control values in every single patient. Clinical ocular amelioration after adalimumab closely correlated with IL-22 in 10 out of 12 patients, thus suggesting the relevance of IL-22 serial measurements for monitoring in this small case series. Discordant patients were an SLE patient, a controversial anti-TNF α responsive disease,²⁹ and a JIA patient with clinical systemic activity.

Although previously described in Th17-mediated diseases, such as psoriasis³⁰ and rheumatoid arthritis,³¹ as far as we are aware, this is the first report describing raised IL-22 serum levels in uveitis patients. Thus far, the role of IL-22 in uveitis has been poorly studied. It has been recently published that IL-22 is protective in an experimental uveitis model (EAU).³² In human uveitides, Li et al. described hyperexpression of IL-22 genes in a heterogeneous group of immune-mediated uveitis.³³ They also showed that IL-22 could induce RPE cell apoptosis *in vitro*. Since RPE cells are critical components of the blood–retinal barrier, Li et al. proposed that IL-22-mediated RPE damage might have a pathogenic role in uveitis by opening the barrier for pathogenic Th1 and Th17 cell entry into the eye. In our present case series, we did not find correlation between IL-22 levels either with other inflammatory cytokines previously involved in blood–retinal barrier rupture, such as TNF α , IL-1 β , and VEGF, or with SAA levels, a biomarker directly upregulated by IL-22.³⁴ Interestingly, in the adalimumab group we also observed a late IL-10 downregulation. However, in our patients IL-22 and IL-10 serum levels were not directly related. Therefore, we cannot yet understand the relevance of raised serum IL-22 levels in refractory uveitis patients.

Our present work is hampered by a few facts. The most important is the limited number of cases and its heterogeneity. A bias in patient's selection is also a possibility since patients in the adalimumab group had previously failed systemic steroids. Moreover, changes observed after 6 months of treatment couldn't be assumed as specific consequences of anti-TNF treatment because 12-month follow-up data from the steroid group are lacking. Despite these concerns, we believe

the results presented here deserve to be further explored since they are original findings in uveitis. If confirmed in a larger number of patients prospectively followed for longer periods, they might represent additional mechanisms explaining anti-TNF α effects on uveitis patients. They might also be helpful in establishing when therapy could be discontinued. Further studies are warranted.

DECLARATION OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

Dr. J. G. Ruiz de Morales currently receives funding through a research grant (2010/A/531) from the Department of Health of the Junta de Castilla y León, Spain (SACYL). Dr. J. G. Ruiz de Morales has received speaker honoraria from Abbott Laboratories (less than 10,000€).

REFERENCES

- Whitcup S. (2010). Diagnostic testing. In: Nussenblatt R, Whitcup S. (eds.), *Uveitis: Fundamentals and Clinical Practice*, 4th ed. (pp. 60–71). New York: Mosby-Elsevier.
- Tervo T, van Setten GB, Hovi M, et al. C-reactive protein serum levels in patients with ocular disease. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1994;72:110–113.
- de Vries MK, van Eijk IC, van der Horst-Bruinsma IE, et al. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein level, and serum amyloid A protein for patient selection and monitoring of anti-tumor necrosis factor treatment in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*. 2009;61:1484–1490.
- Horai R, Caspi RR. Cytokines in autoimmune uveitis. *J Interferon Cytokine Res*. 2011;31:733–744.
- Sugita S, Takase H, Taguchi C, Mochizuki M. The role of soluble TNF receptors for TNF- α in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:3246–3252.
- Fine HF, Baffi J, Reed GF, et al. Aqueous humor and plasma vascular endothelial growth factor in uveitis-associated cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol*. 2001;132:794–796.
- Curnow SJ, Falciani F, Durrani OM, et al. Multiplex bead immunoassay analysis of aqueous humor reveals distinct cytokine profile in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:4251–4259.
- Pérez VL, Papaliodis GN, Chu D, et al. Elevated levels of interleukin 6 in the vitreous fluid of patients with pars planitis and posterior uveitis: the Massachusetts eye & ear experience and review of previous studies. *Ocul Immunol Inflamm*. 2004;12:193–201.
- Sagawa K, Ito K, Sakaguchi M. Production of IL-8 and the other cytokines by T cell clones established from the ocular fluid of patients with Behçet's disease. *Ocul Immunol Inflamm*. 1995;3:63–71.
- el-Shabrawi Y, Livir-Rallatos C, Christen W, et al. High levels of interleukin-12 in aqueous and vitreous of patients with uveitis patients. *Ophthalmology*. 1998;105:1659–1663.
- Kuiper JJ, Mutis T, de Jager W, et al. Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-

- A29-associated birdshot chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol.* 2011;152:177–182.
12. Kebir H, Kreyenborg K, Ifergan I, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood–brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med.* 2007;13: 1173–1175.
 13. Santos Lacomba M, Marcos Martín C, Gallardo Galera JM, et al. Aqueous humor and serum tumor necrosis factor- α in clinical uveitis. *Ophthalmic Res.* 2001;33:251–255.
 14. Kramer M, Monselise Y, Bahar I, et al. Serum cytokine levels in active uveitis and remission. *Curr Eye Res.* 2007;32: 669–675.
 15. Klok AM, Luyendijk L, Zaai MJ, et al. Elevated serum IL-8 levels are associated with disease activity in idiopathic intermediate uveitis. *Br J Ophthalmol.* 1998;82:871–874.
 16. Chi W, Zhu X, Yang P, et al. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:3058–3064.
 17. Li F, Yang P, Liu X, et al. Upregulation of interleukin 21 and promotion of interleukin 17 production in chronic or recurrent Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Arch Ophthalmol.* 2010;128:1449–1454.
 18. Jiang S, Liu X, Luo L, et al. Elevated serum IL-23 correlates with intraocular inflammation after cataract surgery in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol.* 2010;94:1078–1082.
 19. Takase H, Futagami Y, Yoshida T, et al. Cytokine profile in aqueous humor and sera of patients with infectious or noninfectious uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47: 15557–1561.
 20. Dick AD, Forrester JV, Liversidge J, et al. Role of TNF α in experimental autoimmune uveitis. *Prog Retin Eye Res.* 2004; 23:617–637.
 21. Sharma SM, Nestel AR, Lee RW, Dick AD. Clinical review: anti-TNF- α therapies in uveitis: perspective on 5 years of clinical experience. *Ocul Immunol Inflamm.* 2009;17: 403–414.
 22. Suhler EB, Smith JR, Giles TR, et al. Infliximab therapy for refractory uveitis: 2-year results of a prospective trial. *Arch Ophthalmol.* 2009;127:819–822.
 23. Sugita S, Yamada Y, Kaneko S, et al. Induction of regulatory T cells by infliximab in Behçet’s disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:476–484.
 24. Calleja S, Cordero-Coma M, Rodriguez E, et al. Adalimumab specifically induces CD3(+) CD4(+) CD25(high) Foxp3(+) CD127(–) T-regulatory cells and decreases vascular endothelial growth factor plasma levels in refractory immuno-mediated uveitis: a non-randomized pilot intervention study. *Eye (Lond).* 2012;26: 468–477.
 25. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data: results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005; 140:509–516.
 26. Charles P, Elliot MJ, Davis D, et al. Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF α therapy in rheumatoid arthritis. *J Immunol.* 1999;163:1521–1528.
 27. Mastroianni A, Minutilli E, Mussi A, et al. Cytokine profiles during infliximab monotherapy in psoriatic arthritis. *Br J Dermatol.* 2005;153:531–536.
 28. Martinez-Borra J, Lopez-Larrea C, González S, et al. High serum tumor necrosis factor α levels are associated with lack of response to infliximab in fistulizing Crohn’s disease. *Gastroenterology.* 2002;97:2350–2356.
 29. Aringer M, Graninger WB, Steiner G, Smolen JS. Safety and efficacy of tumor necrosis factor α blockade in systemic lupus erythematosus: an open-label study. *Arthritis Rheumatism.* 2004;50:3161–3169.
 30. Caproni M, Antiga E, Melani L, et al. Serum levels of IL-17 and IL-22 are reduced by etanercept, but not by acitretin, in patients with psoriasis: a randomized-controlled trial. *J Clin Immunol.* 2009;29:210–214.
 31. da Rocha Jr LF, Duarte AL, Dantas AT, et al. Increased serum interleukin 22 in patients with rheumatoid arthritis and correlation with disease activity. *J Rheumatol.* 2012;39: 1320–1325.
 32. Ke Y, Sun D, Jiang G, et al. IL-22-induced regulatory CD11b APC suppress experimental autoimmune uveitis. *J Immunol.* 2011;187:2130–2139.
 33. Li Z, Liu B, Maminishkis A, et al. Gene expression profiling in autoimmune noninfectious uveitis disease. *J Immunol.* 2008;181:5147–5157.
 34. Liang SC, Nickerson-Nutter C, Pittman DD, et al. IL-22 induces an acute-phase response. *J Immunol.* 2010;185: 5531–5538.

Adalimumab specifically induces CD3⁺ CD4⁺ CD25^{high} Foxp3⁺ CD127⁻ T-regulatory cells and decreases vascular endothelial growth factor plasma levels in refractory immuno-mediated uveitis: a non-randomized pilot intervention study

S Calleja¹, M Cordero-Coma², E Rodriguez², M Llorente¹, M Franco² and JG Ruiz de Morales^{1,3}

Abstract

Aim To explore immunoregulatory and anti-inflammatory pathways specifically targeted by a subcutaneous anti-TNF α drug—adalimumab—which might be relevant for controlling refractory uveitis.
Design Non-randomized pilot intervention study on the effects of adalimumab on Treg populations and plasma VEGF levels in refractory uveitis patients. Inflammatory and immunological parameters were measured in 12 patients before therapy, and 1 and 6 months after therapy, and analyzed in the context of ophthalmological outcomes. The results were compared with those obtained in 10 systemic prednisone-treated uveitis patients.

Results After 1 month of treatment, all patients responded, with 67% of adalimumab group and 80% of the corticosteroid group achieving inactivity ($P=0.5$). Unlike steroid-treated patients, a significant increase in T-regulatory CD4⁺ CD25^{high} Foxp3⁺ CD127⁻ cells was observed in adalimumab patients after 1 month of treatment, and maintained after 6 months ($P=0.003$). A significant adalimumab-specific drop in plasma VEGF was observed after 1 and 6 months of treatment ($P=0.019$). In every single patient,

Tregs but not VEGF correlated with disease activity.

Conclusions In refractory uveitis patients treated with adalimumab, clinical efficacy may be mediated through upregulation of Tregs in addition to modulation of VEGF-mediated inflammatory pathways. These biological properties, which were not observed in patients treated with corticosteroids, may reflect the specificity of TNF- α targeting.
Eye advance online publication, 6 January 2012; doi:10.1038/eye.2011.320

Keywords: uveitis; anti-TNF α ; adalimumab; immunomodulation; Tregs; VEGF

Introduction

Whether isolated or associated to a systemic disease, noninfectious uveitic syndromes comprise a heterogeneous group of inflammatory conditions, accounting for about 10% of legal blindness.^{1,2} From a pathogenic point of view, uveitis are thought to represent a continuum of immunological diseases, ranging from autoinflammatory conditions (ie, Blau syndrome and Crohn's associated uveitis)

¹Department of Clinical Immunology, Complejo Hospitalario Universitario de León, León, Spain

²Department of Ophthalmology, Complejo Hospitalario Universitario de León, León, Spain

³Instituto de Biomedicina (BIOMED), Universidad de León, León, Spain

Correspondence: JG Ruiz de Morales, Department of Clinical Immunology, Complejo Hospitalario Universitario de León, Altos de Nava s/n, 24080 León, Spain
Tel: +34 987 237 400; Fax: +34 987 277 213. E-mail: jgarcir@gmail.com

Received: 15 April 2011
Accepted in revised form: 3 November 2011

to the autoimmune uveitis observed within the monogenic APECED syndrome or the polygenic Vogt–Koyanagi–Harada syndrome (VKH).³

Tumor necrosis factor- α (TNF α) is a proinflammatory master cytokine produced by several cell types that can exert different effects depending on the tissue and the pathological conditions. In nonphysiological situations, TNF α has an important role in chronic inflammation and autoimmunity.⁴

Irrespective of whether innate or adaptive immune responses are prevalent, TNF α has been reported as an important mediator of the intraocular tissue damage observed in uveitis patients as well as in different models of experimental anterior and posterior uveitis.^{5–8} It has also been associated with some of the most threatening uveitis complications, that is, cystoid macular edema,⁹ and choroidal and retinal neovascularization, probably through interaction with vascular endothelial growth factor (VEGF).¹⁰ However, because randomized-controlled trials in uveitis do not exist, anti-TNF α therapies have not yet been approved for any uveitis entity, except in Japan for refractory Behçet's uveitis. Notwithstanding, they are increasingly being used as off-label rescue therapies in some refractory uveitis (reviewed in Sharma *et al*¹¹).

In systemic diseases in which anti-TNF α drugs are routinely used, anti-inflammatory clinical effects of anti-TNF α are usually accompanied by a reduction in the plasma levels of proinflammatory cytokines and chemokines, such as IL-1, IL-6, IL-8, and VEGF.^{12,13} In uveitis patients, several papers have explored the diagnostic or pathogenic role of systemic and ocular levels of these and many other cytokines and chemokines,^{14,15} but studies specifically dealing with the effect of anti-TNF α therapies on VEGF and other cytokines in different uveitis are scarce.

In addition to its anti-inflammatory properties, it has been reported that anti-TNF α therapies might also induce immunomodulatory effects on adaptive immune responses. Effects of anti-TNF α have already been described on CD4 cell numbers in sarcoidosis patients,¹⁶ on the expression of IL-10 by CD4 T cells in posterior uveitis patients,¹⁷ and on T-regulatory cells (Tregs) in RA and Crohn's patients.^{18,19} This latter effect on Tregs might be of special clinical relevance in uveitis patients, as either a reduced frequency or impaired CD4⁺ Foxp3⁺ T-regulatory function has been described in noninfectious active uveitis,²⁰ active Behçet's disease,²¹ and active VKH uveitis.²² However, some discrepant results have been published that might be probably related to different Treg identification strategies.²³ In fact, identification of human Treg cells is confounded by multiple

immunophenotypes reported in the literature, as well as the existence of several other T- and non-T-cell populations, exerting a regulatory function. However, it is widely accepted that Foxp3 regulatory T cells, either spontaneously arising from the thymus (nTreg) or peripherally-induced Tregs induced after infections, have the central role in controlling the immune activity against self-antigens.²⁴

In the present work, we focus on the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of a subcutaneous anti-TNF α drug (adalimumab) in a population of refractory active uveitis patients. By simultaneously measuring Treg cell numbers and plasma VEGF as surrogate end points, we wished to further understand the mechanisms of disease in ways which are not accessible from clinical observations or patient responses alone.

Patients and methods

Design

Non-randomized pilot intervention study on the effect of adalimumab as rescue therapy for active uveitis patients. Patients were clinically and immunologically evaluated before (t0) and 1 (t1) and 6 (t2) months after treatment.

Patients

A total of 12 patients (19 eyes) who had active chronic uveitis (lasting at least 6 months) refractory to systemic treatment were included. Data collected from patients before receiving treatment included demographic information (age and sex), diagnosis classified by anatomic location according to the Standardization of Uveitis Nomenclature criteria (SUN),²⁵ laterality of disease, systemic disease activity, and previous systemic treatments (Table 1). Mean age was 36.16 years (range 14–58 years), and a variety of uveitis conditions were included: idiopathic panuveitis, VKH uveitis, Behçet's uveitis, juvenile idiopathic arthritis (JIA), SLE, AS, and psoriasis. Adalimumab (Humira, Abbott, Chicago, IL, USA), a fully human anti-TNF α monoclonal antibody, was chosen as rescue therapy for these patients because of failure with first-line systemic therapy. All of them received 40 mg of subcutaneous adalimumab every 14 days without modifications throughout the 6-month study period. None of them had received systemic and/or loco-regional corticosteroids within the last 30 days before starting adalimumab. Chest X-ray, Mantoux, and Quantiferon-TB Gold were performed in all patients before treatment. Adalimumab was the only immunomodulatory agent used in nine of them. In three patients

Table 1 Characteristics of the patients before treatment with adalimumab or systemic steroids

ATG ID	Age	Sex	Diagnosis	Systemic disease activity	OCT/FA grade ^a	Previous systemic treatment
1	58	M	Idiopathic granulomatous panuveitis	NA	1	MM
2	27	F	Anterior non-granulomatous uveitis, AS	Active	0	SPN
3	18	M	Non-granulomatous panuveitis, VKH	Inactive	2	MTX
4	34	M	Non-granulomatous panuveitis, ABD	Active	2	CSA
5	48	M	Non-granulomatous panuveitis, ABD	Inactive	2	CSA
6	58	F	Non-granulomatous panuveitis, SLE	Inactive	1 + 2	MM
7	36	M	Anterior non-granulomatous uveitis, SpA	Inactive	0	PDN
8	14	F	Anterior non-granulomatous uveitis, JIA	Inactive	0	MTX
9	31	M	Anterior non-granulomatous uveitis, JIA	Active	0	MTX
10	28	F	Anterior non-granulomatous uveitis, JIA	Active	1	MTX, IBP
11	49	M	Intermediate non-granulomatous uveitis, AS	Inactive	1 + 2	MTX
12	33	M	Intermediate non-granulomatous uveitis, AS	Active	2	CSA

STG ID	Age	Sex	Diagnosis	Systemic disease activity	OCT/FA grade ^a	Previous systemic treatment
1	37	M	JIA-associated anterior uveitis	Inactive	0	None
2	46	M	AS-associated intermediate uveitis	Active	1	None
3	62	M	Intermediate uveitis (RA patient)	Active	1	None
4	38	F	Idiopathic anterior uveitis	NA	0	None
5	45	F	RA-associated sclerouveitis	Active	0	None
6	28	M	HLA-B27 + anterior uveitis	NA	0	None
7	39	F	Sarcoidosis-associated anterior uveitis	NA	0	None
8	80	M	Idiopathic panuveitis	NA	1	None
9	81	M	Idiopathic intermediate uveitis	NA	0	None
10	34	M	Idiopathic anterior uveitis	NA	0	None

Abbreviations: ABD, Adamantiades-Behçet's disease; AS, ankylosing spondylitis; ATG, adalimumab group; CSA, cyclosporine; FA, fluorescein angiography; IBP, Ibuprofen; JIA, juvenile idiopathic arthritis; MM, mycophenolate mofetil; MTX, methotrexate; NA, not applicable; OCT, optical coherence tomography; PDN, prednisone; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; SpA, spondyloarthritis; SPN, salazopyrin; STG, steroid group; VKH, Vogt-Koyanagi-Harada.

^aOCT/FA grading: 0 = no signs of inflammation; 1 = cystoid macular edema; 2 = vasculitis; 1 + 2 = CME + vasculitis.

(patients no. 3, 4, and 9), adalimumab was used alongside previous immunosuppressors, without any dosage modification throughout the study. All patients completed the study period without serious adverse effects.

A total of 10 additional patients (15 eyes), with active recurrent uveitis and a median age of 49 years (range 28–81 years), who had not previously received any systemic treatment for their condition were selected for comparison and treated with systemic steroids (Table 1). All patients included in this group had had at least one previous episode of uveitis during the last 12 months. All of them received prednisone at an initial dosage of 1 mg/kg/day that was slowly tapered according to disease activity. Prednisone therapy was stopped at day 30 of treatment in eight patients. Patients 1 and 2 received small doses of prednisone (<10 mg) for two additional months. Topical steroids were permitted in these patients if required.

To control for variability and immunological differences within the normal non-uveitic population,

25 age-matched control healthy individuals were used for comparisons in VEGF and Treg analysis.

Informed consent was obtained from the participants. All the procedures in this study were specifically approved by the Hospital's Ethics Committee, and followed the tenets of the Declaration of Helsinki.

Clinical evaluation

Uveitis clinical evaluation and monthly follow-up included visual acuity (VA; best-corrected Snellen VA) and ophthalmic examination, establishing the presence or absence of anterior chamber and/or vitreous inflammation according to the SUN criteria.²⁵ Vitreous haze was considered following the system for the evaluation of vitreal inflammatory activity previously reported.²⁶ Optical coherence tomography (Stratus III, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) was used before and after treatment in both groups of patients to determine the presence of cystoid macular edema (CME).

Table 2 Tregs and plasmatic VEGF levels before and after adalimumab

Patient ID	Pretreatment (t0)				After 1 month of treatment (t1)				After 6 months of treatment (t2)			
	AC infl./ Vit. infl.	OCT R/L ^a	Tregs ^b	VEGF ^c	AC infl./ Vit. infl.	OCT R/L ^a	Tregs ^b	VEGF ^c	AC infl./ Vit. infl.	OCT R/L ^a	Tregs ^b	VEGF ^c
1	Active/active	290/309	1.5 (450)	134.42	Inactive/active	300/270	1.7 (510)	131.89	Inactive/inactive	220/214	3.5 (1050)	20.95
2	Active/inactive	227/232	0.8 (240)	57.69	Inactive/inactive	216/227	1.1 (330)	44.89	Inactive/inactive	208/220	2.3 (690)	50.29
3	Active/active	253/236	0.4 (120)	85.63	Inactive/active	235/226	0.8 (240)	46.68	Inactive/inactive	226/230	0.7 (219)	39.61
4	Active/active	227/232	0.3 (90)	158.21	Inactive/inactive	219/230	1.0 (300)	104.31	Active/active	227/219	0.5 (150)	82.47
5	Inactive/active	233/221	0.6 (180)	46.68	Inactive/inactive	222/226	0.7 (210)	30.16	Inactive/inactive	209/214	0.8 (240)	27.66
6	Active/active	242/520	1.7 (510)	34.44	Inactive/active	224/469	2.4 (720)	46.68	Inactive/inactive	229/206	2.2 (660)	96.45
7	Active/inactive	211/210	3.8 (1140)	61.48	Inactive/inactive	200/207	4.0 (1200)	37.88	Inactive/inactive	209/212	3.9 (1170)	27.66
8	Active/inactive	209/220	0.5 (150)	140.92	Inactive/inactive	214/210	1.5 (450)	100.91	Inactive/inactive	211/223	1.3 (390)	61.48
9	Active/inactive	217/211	0.8 (240)	75.26	Inactive/inactive	221/219	2.2 (660)	110.07	Active/inactive	217/222	1.4 (435)	36.15
10	Active/inactive	299/321	2.0 (600)	17.56	Active/active	242/300	2.1 (630)	12.27	Inactive/inactive	227/242	2.1 (636)	9
11	Active/inactive	305/219	2.0 (600)	140.21	Inactive/inactive	277/221	2.1 (630)	103.02	Inactive/inactive	233/230	2.1 (630)	80.22
12	Active/active	221/228	0.38 (114)	23.47	Inactive/inactive	220/225	0.7 (216)	19.26	Inactive/inactive	224/227	1.4 (426)	9

Abbreviations: AC infl., anterior chamber inflammation; L, left eye; OCT, optical coherence tomography; R, right eye; Vit. infl., vitreous inflammation.
^aOCT results (1-mm central retinal thickness) are in μm.
^bTreg: results are % referred to CD4 T cells, and numbers in brackets are absolute Treg cell numbers in 30 000 CD4 T cells analyzed.
^cVEGF: results are in pg/ml.

The 1-mm central retinal thickness was evaluated using the fast macula scan feature (Table 2). Fluorescein angiogram (FA) was also performed in all subjects before and after the treatment to assess the presence of retinal vasculitis.

We classified 'inactive uveitis' as grade 0 cells in both anterior and/or posterior segment in addition to absence of other signs of intraocular inflammation (CME and vasculitis). Moreover, we defined 'improved activity' as a two-step decrease in level of inflammation (eg, anterior chamber cells, vitreous haze) or decrease to grade 0.

Immunological work-up

Peripheral blood samples were obtained from 12 patients in the adalimumab group (ATG) and 10 patients from the systemic steroid group (STG). Three samples from each patient in the adalimumab group were studied, one obtained before the beginning of the treatment (t0), the second extracted after 1 month of treatment (t1), and the last after 6 months of treatment (t2). As all STG patients were inactive after 3 months, only the t0 and t1 samples were obtained from this group.

VEGF measurement. Aliquots of sera from patients were frozen at -70 °C until later use. To minimize for intra- and inter-experiment variations, one aliquot from each patient or control was run in duplicate within the same assay, and replicated in a different assay with the remaining aliquot. VEGF was measured by means of cytometric bead array technology (CBA; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA), acquired in a FACS Canto cytometer, and analyzed with FCAP Array software (Becton-Dickinson). Limit of detection for VEGF was 2.5 pg/ml.

Peripheral blood and Treg immunophenotyping. Total T CD3, CD4, and CD8 lymphocytes were studied in whole peripheral blood samples at t0, t1 (STG and ATG), and t2 (only ATG) using flow cytometry. Absolute cell numbers were obtained by using Trucount tubes (Becton Dickinson). T-regulatory phenotyping was performed in peripheral blood mononuclear cells purified by Ficoll gradient. The following fluorochrome-labeled monoclonal antibodies were used for cell surface staining: CD3 (clone SK7) and CD25 (clone 2A3) from Becton Dickinson and CD4 (clone RPA-T4) and CD127 (clone M21) from Pharmingen (Franklin Lakes, NJ, USA).

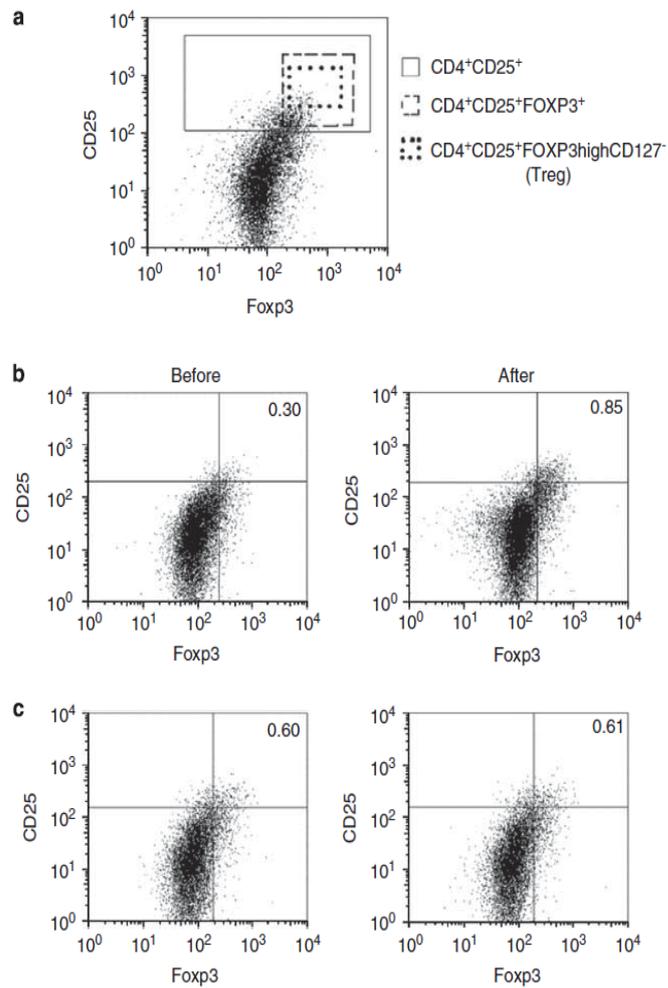


Figure 1 Tregs in uveitis patients treated with adalimumab or systemic steroids. (a) Three different $CD3^+ CD4^+$ cell populations analyzed according to CD25, Fxp3, and CD127 degree of expression, after a previous selection as described in Patients and methods. (b) Treg percentages before (left) and after 1 month (right) of adalimumab are shown. (c) Treg analysis before (left) and after 1 month (right) of steroids. Results are in percent (%) referred to as % of $CD3^+ CD4^+$ total cells, and are representative of a typical patient from each group.

For intracellular staining, cells were fixed and permeabilized before adding antihuman Fxp3 (clone 259D/C7, from Pharmingen). Adequate isotype controls were always included in every experiment. Samples were run and analyzed in a two laser flow cytometer (FACS Canto, Becton Dickinson), and reanalyzed with FlowJo software (Tree Star, Ashland, OR, USA). Average number of $CD3^+ CD4^+$ cells analyzed from each sample was at least 30 000. The following populations were defined: total $CD3^+ CD4^+$ ($CD3^+ CD4^+$), total CD25 T cells ($CD3^+ CD4^+ CD25^+$), total T cells co-expressing CD25 and Fxp3 ($CD3^+ CD4^+ CD25^+ Fxp3^+$), and T-regulatory cells ($CD3^+ CD4^+ CD25^{high} Fxp3^+ CD127^-$;

Figure 1a). Percentages and absolute numbers were referred to the total $CD3^+ CD4^+$ cells.

Statistical analysis

All the variables were analyzed with SPSS v 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Continuous variables were expressed as medians and SEM, unless otherwise specified. Differences between groups for quantitative variables were assessed by nonparametric Mann-Whitney *U*-test. The nonparametric Wilcoxon test was used when paired samples were compared. Dependency of variables was

assessed by Spearman's Rho correlation test. A P -value <0.05 was selected to reject the null hypothesis.

Results

Clinical responses

All patients with refractory uveitis who received adalimumab as rescue therapy responded favorably after 1 month of treatment, with 8/12 patients showing fully inactive uveitis, 3/12 improved activity, and 1/12 (patient no. 10) remaining active at t1 (Table 2). By month 1, all subjects had VA improvement in at least one eye. Signs of active vasculitis on angiography (evidenced in six patients before treatment) were absent by month 1 in all patients, whereas OCT signs of macular edema (evidenced in four patients before treatment) were still present in three patients, but showed decreased central macular thickness (Table 2). After 3 months of treatment, all patients had their uveitis under control, with complete resolution of macular edema. However, relapses occurred in two patients later on, while still on adalimumab. Patient no. 4 with Behçet-associated panuveitis had a relapse after a 4-month period free of inflammation. Patient no. 9 had a relapse of his JIA-associated uveitis after cataract surgery. He had been under control for 3 months before surgery.

All steroid-treated patients but two (patients no. 2 and 3) had resolution of their ocular inflammation after 1 month of treatment, and systemic therapy was slowly discontinued. By month 6, intraocular inflammation was inactive in 9/10 patients (all patients except no. 3, who switched to mycophenolate), and remained asymptomatic until the end of the study (data not shown).

No major systemic adverse effects were observed. Only a local reaction (patient no. 2) and two minor upper respiratory infections (patients no. 4 and 9) were recorded in the adalimumab group.

VEGF measurement

VEGF plasma levels were measured at t0, t1, and t2 in adalimumab patients, and t0 and t1 in patients treated with systemic steroids. As VEGF is not commonly measured and reference ranges do not exist, we used 25 healthy controls for comparisons. Median VEGF plasma levels in uveitis patients before treatment ($n = 22$, t0) did not significantly differ from those observed in normal controls (78.18 and 102.45 pg/ml, respectively, $P = 0.077$). Moreover, no significant differences in median basal VEGF levels were found at t0 between adalimumab- and steroid-treated patients (81.33 and 75.04 pg/ml, respectively, $P = 0.792$). All adalimumab-treated patients

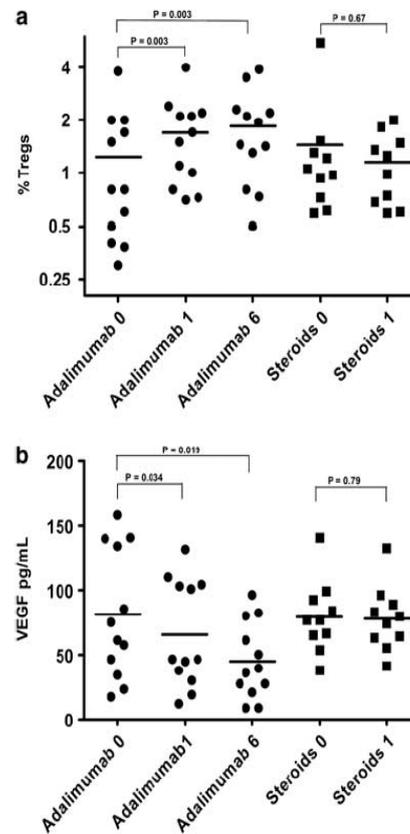


Figure 2 Tregs and VEGF plasmatic levels at different time points in uveitis patients treated with adalimumab or systemic steroids. (a) Tregs (% of total $CD4^+$ T lymphocytes) and (b) VEGF levels (pg/ml) from 12 adalimumab-treated and 10 steroid-treated patients are shown at different time points (0, 1, and 2 corresponding to pretreatment, after 1 month and 6 months of treatment). Individual patients and means are represented.

but one (no. 6 with a diagnosis SLE) showed decreased VEGF plasma levels after treatment. As seen in Figure 2, VEGF levels significantly decreased after 1 month of adalimumab (median 65.68 pg/ml, $P = 0.034$) and continued decreasing after 6 months (median 45.07 pg/ml, $P = 0.019$). In all, 10 out of 12 patients showed decreased VEGF at t1 and 11/12 at t2. This effect was not observed after treatment with steroids ($P = 0.79$).

Adaptive immune-response parameters: total lymphocytes, total CD25 T lymphocytes, and Tregs

To look for changes in adaptive immune responses, peripheral blood lymphocyte phenotyping was performed at different time points. We did not find basal differences in T populations between uveitis patients and age-matched controls, or among adalimumab- and

Table 3 Changes in different CD4⁺CD25⁺ cell populations in uveitis patients treated with adalimumab or systemic steroids

Lymphocyte population	ATG patients (n = 12)				STG patients (n = 10)			
	t0	t1	t2	P-value		t0	t1	P-value
					(t0-t1)	(t0-t2)	(t0-t1)	
CD3 CD4 CD25	4.04 (2.48-8.48)	2.73 (1.96-7.28)	2.93 (1.12-14.64)	0.239	0.108	4.03 (1.54-5.61)	3.48 (1.21-4.88)	0.028
CD3 CD4 CD25 Foxp3	2.37 (0.80-4.36)	1.98 (0.77-3.59)	2.02 (0.85-3.42)	0.084	0.023	2.7 (1.02-4.46)	2.04 (1.12-3.52)	0.032
CD3 CD4 CD25 ^{high} Foxp3	0.8 (0.38-3.80)	1.6 (0.60-4.0)	1.69 (0.50-3.90)	0.003	0.003	1.01 (0.59-5.53)	1.12 (0.59-2.0)	0.799

Abbreviations: ATG, adalimumab-treated group; STG, steroid-treated group.

P-values are referred to differences between variation at the specified time points. t0 = pretreatment; t1 = after 1 month of treatment; t2 = after 6 months of treatment. Results are median % values, and are referred to CD4.

steroid-treated patients. No effect in absolute or relative T CD4 and CD8 subpopulations could be observed after either treatment (data not shown). A detailed analysis of three different populations of CD3⁺, CD4⁺, and CD25⁺ T lymphocytes was later performed (Figure 1a). Steroid-treated patients, but not adalimumab-treated patients, showed a significant median reduction in total CD25 T-cell numbers (CD3, CD4, CD25) after 1 month of treatment ($P = 0.028$; Table 3). We next explored changes in CD25 T cells expressing Foxp3 (CD3, CD4, CD25, FoxP3), which include activated T and Treg cells. Both adalimumab and steroids induced a significant reduction of this population (Table 3).

Finally, we wished to specifically explore treatment-induced changes in the number of regulatory T cells exerting immunosuppressive functions (Tregs). For such a purpose, we restricted the analysis to CD4 T lymphocytes expressing the highest amount of surface CD25 that co-expressed Foxp3, and simultaneously lacking CD 127 (Figure 1a). Median baseline Treg values in refractory uveitis patients selected for adalimumab treatment did not differ from normal 25 non-uveitis controls ($P = 0.35$), nor from steroid-treated patients ($P = 0.57$). In all, 12 out of 12 adalimumab-treated patients showed increased Treg cell numbers (Table 2). After 1 month on adalimumab (two infusions), median Treg cell numbers significantly increased above pretreatment values ($P = 0.003$), and remained at the same increased values after 6 months of treatment ($P = 0.003$; Figure 2). No effect on Tregs was observed in steroid-treated patients ($P = 0.67$). Figure 1b shows a representative patient from the adalimumab group and from the steroid group (Figure 1c) before (left panel) and after (right panel) 1 month of either treatment.

Correlation between clinical activity, VEGF, and Tregs

First at all, we analyzed whether the relevant observed effects of adalimumab on VEGF and Tregs were related. In a paired analysis, no association was found between decreased plasma VEGF levels and increased Treg cell

numbers (Spearman's ρ , $P = 0.396$, 0.497 , and 0.609 at t0, t1, and t2, respectively), ruling out a direct effect of Treg cell numbers on plasma VEGF levels.

Because changes in plasma VEGF and Tregs were apparently adalimumab specific, we next wished to explore whether they correlated with disease activity. An important variability in Treg cell numbers was observed among normal controls, and also among patients at t0. In an intraindividual analysis at different time points, increased Tregs mostly correlated with clinical remission, except in patients no. 1, 3, and 6, with a diagnosis of idiopathic panuveitis, VKH-, and SLE-associated uveitis, respectively. In these three patients, although Treg cell numbers had already raised and clinical improvement was evident by month 1, longer adalimumab treatment and steady Treg cell numbers were required for full clinical remission. Relapses in patients no. 4 and 9 were accompanied by a significant decline in Tregs (Table 2).

The same analysis on the entire active and inactive uveitis patients was performed with plasma VEGF levels. In an intra-patient analysis, despite falls in VEGF levels occurred in 8 out of 12 patients, a correlation between falls in VEGF and clinical measures of activity was only observed in 6 out of 12 adalimumab-treated patients (Table 2).

Discussion

In the present work, we wished to explore the effect of the subcutaneous TNF α blocker adalimumab on likely relevant immunological targets involved in refractory uveitis patients. In an attempt to investigate the mechanisms that might be associated with its reported clinical benefits in some uveitis patients, we focused on VEGF and Tregs, and compared the effects with those obtained with the current gold-standard therapy (ie, systemic steroids). We have shown that although both treatments were equally able to reduce clinical activity, only adalimumab induced increased Treg cell numbers and a reduction in plasma VEGF levels. A controlled

trial—the ideal design for this purpose—could not be carried out because anti-TNF α in our and in most institutions is only allowed as rescue therapy for uveitis when other treatments have failed.

Inflammation and angiogenesis are tightly linked. TNF α is recognized as one of the inflammatory cytokines that upregulates VEGF production in choroidal endothelial cells, thus promoting ocular neovascularization and cystoid macular edema.^{27,28} In fact, treatment with anti-TNF α has been useful in regression of neovascular age-related macular degeneration,²⁹ in an animal model of laser-induced neovascularization,³⁰ and in cystoid macular edema.³¹ Although not yet described in uveitis patients, a reduction in plasma VEGF levels in infliximab-treated psoriasis, RA, and AS patients correlated with disease inactivity.^{12,32,33} Thus, we chose the presumptive pathogenically relevant proinflammatory and proangiogenic VEGF as a surrogate marker of the anti-inflammatory effect of adalimumab in our refractory uveitis patients. We observed a reduction of plasma VEGF in the adalimumab group, which was not observed in patients treated with steroids, suggesting a specific drug effect. Of note, VEGF consistently decreased in all but one patient with a previous diagnosis of SLE, a recognized anti-TNF α refractory disease. This finding extends to uveitis patients the previously reported effects of anti-TNF α therapies on systemic VEGF levels. It might be an additional interesting specific anti-inflammatory therapeutic effect that could be considered to prevent macular edema and neovascularization in certain chronic uveitis patients. However, because the small number of patients analyzed, larger and/or parallel studies on VEGF levels within ocular fluids are needed to address whether this adalimumab-specific effect might be relevant in uveitis' natural history.

When focusing on the immunomodulatory effect on the adaptive immune responses elicited by either treatment, we did not find any significant effect on T lymphocytes. However, both steroids and adalimumab equally reduced the number of CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ T lymphocytes, which besides Treg mostly include activated and memory T lymphocytes.³⁴ It has to be stressed that some of these CD4⁺ CD25⁺ non-regulatory T cells can transiently co-express Foxp3 upon activation,³⁵ rendering distinction between CD4 T-activated cells and Tregs complicated. This might explain several disparate reports of Treg quantification in disease settings.³⁶ Interestingly, when we restricted the analysis to the CD25 brightest population that co-expressed Foxp3 and lacked CD127—which have been considered as more Treg-specific markers³⁷—some important differences appeared. First of all, mean Treg cell numbers did not differ between uveitis patients and age-matched controls, apparently lessening its role at

disease onset. There were, however, wide fluctuations among individuals, both controls and patients. Second, patients selected for adalimumab because steroid resistance did not exhibit lower basal Treg cell numbers than steroid-treated patients, suggesting that Tregs are not an appropriate biomarker for identifying refractory disease. Finally, adalimumab specifically induced a sustained increase in Tregs in 12/12 patients, which was not observed in any steroid-treated patient. This effect had been previously demonstrated in RA patients in whom infliximab—an intravenous anti-TNF α blocker—increased periphery-induced Treg cell numbers and function, which correlated with a reduction in C-reactive protein and inactive disease.³⁸

Our finding of increased Treg, either natural or periphery induced, after treatment with adalimumab in all patients from a heterogeneous case series strongly suggests a drug-specific effect. Is this relevant for disease control? In the experimental autoimmune uveitis EAU model, it is thought that naturally occurring thymic nTregs control the threshold of susceptibility to uveitis, meanwhile periphery-induced Tregs are likely responsible of its termination.²⁴ Interestingly, in a very recent paper, Sugita³⁹ reported that patients with active Behçet's uveitis, but not patients with active VKH uveitis or active toxoplasmosis, showed decreased Treg cell numbers and function that specifically increased after infliximab therapy. In that paper, raised Treg was associated with remission and a lack of subsequent episodes of acute uveitis. Similar results were found here in both included Behçet's patients. In our heterogeneous case series, an association was observed between increased Treg cell numbers and reduction in disease activity at 6 months in each adalimumab-treated patient. This might point toward a role of Tregs in long-term control of relapses. However, the lack of a clinical correlation in some patients at 1 month clearly reflects that mechanisms other than Tregs—ie, other regulatory mechanisms—contribute to controlling uveitis flares, as observed in our steroid-treated uveitis patients.

Limitations in this study exist that include small sample size, heterogeneity of the uveitis, and a potential bias in patients selection, as adalimumab-treated patients only included those in whom steroids and other immunomodulatory drugs had previously failed. Moreover, a functional analysis of Tregs was not performed. Despite these concerns, we believe that the results herein presented suggest adalimumab-specific effects in uveitis patients irrespective of the underlying disease. If our findings are confirmed by other investigators, further studies should be carried out to assess whether earlier introduction of anti-TNF α drugs might modify the natural history of refractory uveitis syndromes.

Summary

What was known before

- Systemic steroids are first-line therapy in refractory uveitis—TNF α is a key mediator in tissue damage and in complications observed in chronic uveitis—‘off-label’ TNF α blockade is increasingly being used in refractory uveitis.

What this study adds

- Compared with steroids, the subcutaneous anti-TNF α adalimumab induces drug-specific and disease-independent VEGF downregulation and immunomodulatory effects—adalimumab-induced Treg cell number rise correlates with disease activity.

Conflict of interest

Dr JG Ruiz de Morales has received speaker honoraria from Abbott Laboratories (less than 10.000€). Dr Ruiz de Morales currently receives funding through a research grant (2010/A/531) from the Department of Health of the Junta de Castilla y León, Spain (SACYL).

Acknowledgements

We are grateful to the patients and controls for their participation in this study.

References

- Nussenblatt RB. The natural history of uveitis. *Int Ophthalmol* 1990; 14: 303–308.
- Gritz DC, Wong IG. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; the Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology* 2004; 111(3): 491–500.
- McGonagle D, McDermott MF. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med* 2006; 3(8): e297.
- Scheinecker C, Redlich K, Smolen JS. Cytokines as therapeutic targets: advances and limitations. *Immunity* 2008; 28(4): 440–444.
- Dick AD, Duncan L, Hale G, Waldmann H, Isaacs J. Neutralizing TNF-alpha activity modulates T-cell phenotype and function in experimental autoimmune uveoretinitis. *J Autoimmun* 1998; 11(3): 255–264.
- Planck SR, Huang XN, Robertson JE, Rosenbaum JT. Cytokine mRNA levels in rat ocular tissues after systemic endotoxin treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35(3): 924–930.
- Woon MD, Kaplan HJ, Bora NS. Kinetics of cytokine production in experimental autoimmune anterior uveitis (EAAU). *Curr Eye Res* 1998; 17(10): 955–961.
- Sartani G, Silver PB, Rizzo LV, Chan CC, Wiggert B, Mastorakos G et al. Anti-tumor necrosis factor alpha therapy suppresses the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice by inhibiting antigen priming. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37(11): 2211–2218.
- Fine HF, Baffi J, Reed GF, Csaky KG, Nussenblatt RB. Aqueous humor and plasma vascular endothelial growth factor in uveitis-associated cystoid macular edema. *Am J Ophthalmol* 2001; 132(5): 794–796.
- Bian ZM, Elnor SC, Elnor VM. Regulation of VEGF mRNA expression and protein secretion by TGF-beta2 in human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res* 2007; 84(5): 812–822.
- Sharma SM, Nestel AR, Lee RW, Dick AD. Clinical review: Anti-TNFalpha therapies in uveitis: perspective on 5 years of clinical experience. *Ocul Immunol Inflamm* 2009; 17(6): 403–414.
- Macias I, Garcia-Perez S, Ruiz-Tudela M, Medina F, Chozas N, Giron-Gonzalez JA. Modification of pro- and antiinflammatory cytokines and vascular-related molecules by tumor necrosis factor-alpha blockade in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32(11): 2102–2108.
- Visvanathan S, van der Heijde D, Deodhar A, Wagner C, Baker DG, Han J et al. Effects of infliximab on markers of inflammation and bone turnover and associations with bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68(2): 175–182.
- Klok AM, Luyendijk L, Zaal MJ, Rothova A, Hack CE, Kijlstra A. Elevated serum IL-8 levels are associated with disease activity in idiopathic intermediate uveitis. *Br J Ophthalmol* 1998; 82(8): 871–874.
- Banerjee S, Savant V, Scott RA, Curnow SJ, Wallace GR, Murray PI. Multiplex bead analysis of vitreous humor of patients with vitreoretinal disorders. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(5): 2203–2207.
- Crouser ED, Lozanski G, Fox CC, Hauswirth DW, Raveendran R, Julian MW. The CD4+ lymphopenic sarcoidosis phenotype is highly responsive to anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Chest* 2010; 137(6): 1432–1435.
- Greiner K, Murphy CC, Willermain F, Duncan L, Plskova J, Hale G et al. Anti-TNFalpha therapy modulates the phenotype of peripheral blood CD4+ T cells in patients with posterior segment intraocular inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45(1): 170–176.
- Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, Moore S, Wames G, Isenberg DA et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy. *J Exp Med* 2004; 200(3): 277–285.
- Ricciardelli I, Lindley KJ, Londei M, Quaratino S. Anti tumour necrosis-alpha therapy increases the number of FOXP3 regulatory T cells in children affected by Crohn's disease. *Immunology* 2008; 125(2): 178–183.
- Yeh S, Li Z, Forooghian F, Hwang FS, Cunningham MA, Pantanelli S et al. CD4+ Foxp3+ T-regulatory cells in noninfectious uveitis. *Arch Ophthalmol* 2009; 127(4): 407–413.
- Hamzaoui K, Hamzaoui A, Houman H. CD4+ CD25+ regulatory T cells in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24(Suppl 42): S71–S78.
- Chen L, Yang P, Zhou H, He H, Ren X, Chi W et al. Diminished frequency and function of CD4+ CD25high regulatory T cells associated with active uveitis in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(8): 3475–3482.
- Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(7): 490–500.
- Caspi RR. A look at autoimmunity and inflammation in the eye. *J Clin Invest* 2010; 120(9): 3073–3083.
- Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of

- the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005; 140(3): 509–516.
- 26 Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, Roberge F. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology* 1985; 92: 467–471.
- 27 Giraud E, Primo L, Audero E, Gerber HP, Koolwijk P, Soker S et al. Tumor necrosis factor-alpha regulates expression of vascular endothelial growth factor receptor-2 and of its co-receptor neuropilin-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1998; 273(34): 22128–22135.
- 28 Hangai M, He S, Hoffmann S, Lim JI, Ryan SJ, Hinton DR. Sequential of angiogenic growth factors by TNF- α in choroidal endothelial cells. *J Neuroimmunol* 2006; 171: 45–56.
- 29 Markomichelakis NN, Theodossiadis PG, Sfikakis PP. Regression of neovascular age-related macular degeneration following infliximab therapy. *Am J Ophthalmol* 2005; 139: 537–540.
- 30 Lichtlen P, Lam TT, Nork TM, Streit T, Urech DM. Relative contribution of VEGF and TNF- α in the cynomolgus laser-induced CNV model: comparing the efficacy of bevacizumab, adalimumab, and ESBA105. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(9): 4738–4745.
- 31 Markomichelakis NN, Theodossiadis PG, Pantelia E, Papaefthimiou S, Theodossiadis GP, Sfikakis PP. Infliximab for chronic cystoid macular edema associated with uveitis. *Am J Ophthalmol* 2004; 138(4): 648–650.
- 32 Canete JD, Pablos JL, Sanmarti R, Mallofre C, Marsal S, Maymo J et al. Antiangiogenic effects of anti-tumor necrosis factor alpha therapy with infliximab in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(5): 1636–1641.
- 33 Pedersen SJ, Hetland ML, Sorensen IJ, Ostergaard M, Nielsen HJ, Johansen JS. Circulating levels of interleukin-6, vascular endothelial growth factor, YKL-40, matrix metalloproteinase-3, and total aggrecan in spondyloarthritis patients during 3 years of treatment with TNF α inhibitors. *Clin Rheumatol* 2010; 29(11): 1301–1309.
- 34 Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med* 2006; 203(7): 1701–1711.
- 35 Gavin MA, Torgerson TR, Houston E, DeRoos P, Ho WY, Stray-Pedersen A et al. Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(17): 6659–6664.
- 36 Wang J, Ioan-Facsinay A, van der Voort EI, Huizinga TW, Toes RE. Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4+ T cells. *Eur J Immunol* 2007; 37(1): 129–138.
- 37 Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 2009; 30(6): 899–911.
- 38 Nadkarni S, Mauri C, Ehrenstein MR. Anti-TNF-alpha therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF-beta. *J Exp Med* 2007; 204(1): 33–39.
- 39 Sugita S, Yamada Y, Kaneko S, Horie S, Mochizuki M. Induction of regulatory T cells by infliximab in Behcet's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(1): 476–484.

Treatment of Refractory Uveitis with Adalimumab: A Prospective Multicenter Study of 131 Patients

Manuel Díaz-Llopis, MD,¹ David Salom, MD,¹ Carmen Garcia-de-Vicuña, MD,² Miguel Cordero-Coma, MD,³ Gabriela Ortega, MD,⁴ Norberto Ortega, MD,⁵ Marta Suarez-de-Figueroa, MD,⁶ Maria J. Rio-Pardo, MD,⁷ Carlos Fernandez-Cid, MD,⁸ Alex Fonollosa, MD,⁹ Ricardo Blanco, MD,¹⁰ Angel M. Garcia-Aparicio, MD,¹¹ Jose M. Benitez-del-Castillo, MD,¹ Jose L. Olea, MD,¹³ J. Fernando Arevalo, MD^{14,15}

Objective: To evaluate adalimumab therapy in refractory uveitis.

Design: Prospective case series.

Participants: A total of 131 patients with refractory uveitis and intolerance or failure to respond to prednisone and at least 1 other systemic immunosuppressive drug participated.

Intervention: Patients received a 40 mg adalimumab subcutaneous injection every other week for 6 months. The associated immunosuppressants were tapered after administering 3 adalimumab injections (week 6).

Main Outcome Measures: Degree of anterior and posterior chamber inflammation (Standardization of Uveitis Nomenclature Working Group criteria), immunosuppression load (as defined by Nussenblatt et al), visual acuity (logarithm of the minimal angle of resolution [logMAR]), and macular thickness (optical coherence tomography).

Results: There were 61 men and 70 women (mean age, 27.3 years). The most common causes were juvenile idiopathic arthritis in 39 patients, pars planitis in 16 patients, and Behçet's disease in 13 patients. Twenty-seven patients had uveitis of idiopathic origin. Inflammation in the anterior chamber was present in 82% of patients and in the vitreous cavity in 59% of patients. Anterior chamber inflammation and vitreous inflammation decreased significantly ($P < 0.001$) from a mean of 1.51 and 1.03 at baseline to 0.25 and 0.14, respectively, at 6 months. Macular thickness was 296 (102) μ at baseline versus 240 (36) μ at the 6-month visit ($P < 0.001$). Visual acuity improved by -0.3 logMAR in 32 of 150 eyes (21.3%) and worsened by $+0.3$ logMAR (-15 letters) in 5 eyes (3.3%). The dose of corticosteroids also decreased from 0.74 (3.50) to 0.20 (0.57) mg/kg/day ($P < 0.001$). Cystoid macular edema, which was present in 40 eyes at baseline, showed complete resolution in 28 eyes at 6 months. The mean suppression load decreased significantly (8.81 [5.05] vs 5.40 [4.43]; $P < 0.001$). Six months after the initiation of the study, 111 patients (85%) were able to reduce at least 50% of their baseline immunosuppression load. Only 9 patients (6.9%) had severe relapses during the 6 months of follow-up.

Conclusions: Adalimumab seems to be well tolerated and helpful in decreasing inflammatory activity in refractory uveitis and may reduce steroid requirement. Further controlled studies of adalimumab for uveitis are warranted.

Financial Disclosure(s): The authors have no proprietary or commercial interest in any materials discussed in this article. *Ophthalmology* 2012;xx:xxx © 2012 by the American Academy of Ophthalmology.

Uveitis is a complex intraocular inflammatory disease that results from several etiologic entities, which in total has been estimated to cause approximately 10% of blindness.^{1,2} Population-based studies have shown an increasing trend in the incidence of uveitis, especially with patients' increasing age.³ Severe vision-threatening uveitis remains a significant public health problem, often resulting in vision loss without proper therapy.⁴ Many cases are associated with underlying systemic autoimmune diseases, the most common of which are spondyloarthropathies, sarcoidosis, and Behçet disease.⁵ Uveitis is believed to represent an abnormal T-cell-mediated immune response to antigens in the eye, resulting in an acute or chronic dysregulation of normal ocular immunity.^{6,7} This has

provided a rationale for treatment with immunosuppressive medications, such as corticosteroids.⁸

In clinical practice, therapeutic options in the management of noninfectious uveitis have expanded since the introduction of corticoid-sparing immunosuppressive agents. Although these agents have contributed to help the clinician in reducing corticosteroid-related complications, many cases remain refractory to immunosuppressive agents, which have prompted the need for better-targeted anti-inflammatory therapies. During the last few years, there have been reports on the role of tumor necrosis factor (TNF)- α and other interleukins in the pathogenesis of ocular inflammation.⁹ High levels of TNF- α have been detected in serum and aqueous humor of patients with uveitis.^{10,11}

These observations have led to the use of anti-TNF- α agents in the management of uveitis. Inhibition of TNF- α activity has proved effective for the treatment of such systemic inflammatory diseases as rheumatoid arthritis and Crohn's disease.

Different studies of TNF- α antagonists, especially infliximab, have consistently shown a decrease in eye inflammation in response to TNF- α blockade.^{12,13} However, the evidence provided has been hampered by the retrospective nature of most clinical series, small sample size, differential follow-up times, lack of standardization of disease activity and disease outcome measures, and reports on patients with a variety of underlying diagnoses. The anti-TNF- α agent adalimumab, a fully human monoclonal antibody, has shown promising results in controlling intraocular inflammation, even though this has been used primarily as a rescue therapy for refractory uveitis.¹⁴ It has been shown that adalimumab effectively reduced the incidence of uveitis flares in patients with active ankylosing spondylitis,¹⁵ and open-label evaluations have also demonstrated the efficacy of adalimumab therapy for childhood uveitis.^{16,17} In a recent comparative cohort study on anti-TNF- α treatment for sight-threatening childhood uveitis, adalimumab was more efficacious than infliximab in maintaining remission of chronic childhood uveitis over 3 years.¹⁸ In addition, switching to adalimumab can offer induction of clinical remission in infliximab-allergic patients or in those with poor response.¹⁹

In a previous single-center prospective pilot study of 19 patients with noninfectious uveitis who were refractory to standard immunomodulatory treatment regimens, including etanercept and infliximab, a significant response to adalimumab was documented.²⁰ On the basis of these results, a prospective multicenter study was designed to evaluate adalimumab therapy in a large population of patients with noninfectious refractory uveitis.

Materials and Methods

Design and Enrollment Criteria

A prospective open-label noncomparative and multicenter study was conducted in the outpatient clinics of the Services of Ophthalmology or Uveitis Units of 12 centers throughout Spain and 2 centers in Latin America (Mexico, DF, Mexico, and Caracas, Venezuela) in daily practice conditions. The objective of the study was to evaluate adalimumab for treating patients with bilateral or unilateral, chronic, noninfectious, refractory uveitis. Uveitis was defined as refractory when patients were receiving the highest anti-inflammatory or immunosuppressant regimen in their lives and it was insufficient to maintain the disease under control, defined as having a history of at least 1 relapse of the disease in the year before enrollment that required an increase of the dose of oral corticosteroid or other immunosuppressive agents, including infliximab, etanercept, or daclizumab to control the episode. The study protocol was approved by the ethics committee of each participating center, and written informed consent was obtained from all patients.

The inclusion criteria comprised any patient with the diagnosis of noninfectious uveitis for more than 1 year before enrollment, using an ineffective therapy, consisting of at least 1 additional immunosuppressant drug besides corticosteroids that was not able to maintain the patient without relapses and that needed an elevation of the oral corticosteroid or other immunosuppressant dosage to control the inflammation in the year before enrollment; patients had to be receiving a stable immunosuppressant regimen for at least 4 weeks before the first adalimumab administration; no evidence of malignancy or systemic infection; and general good health on medical history, physical examination, and standard laboratory tests. Exclusion criteria were recent serious, recurrent, or chronic infection, including human immunodeficiency virus, hepatitis B, hepatitis C, or tuberculosis; liver, renal, cardiac, or demyelinating disease; history of substance abuse, malignancy, or solid-organ transplantation; and intraocular surgery in the previous 3 months. Pregnant or lactating women were excluded, as were those patients enrolled in investigative clinical trials (additional criteria in Table 1).

Table 1. Inclusion and Exclusion Criteria for Participation in Study

Inclusion
1. Bilateral, chronic, noninfectious, refractory uveitis*
2. Failure or intolerance of prednisone therapy and ≥ 1 other systemic immunosuppressive therapy
3. Stable immunosuppressant regimen for at least 4 weeks before the first adalimumab administration
4. Any age
5. No evidence of malignancy or systemic infection and general good health on screening examinations, including medical history, physical examination, chest radiography, and purified protein derivative skin testing
6. Magnetic resonance imaging of brain showing no evidence of demyelination for patients with pars planitis
7. Renouncing for pregnancy
8. Give informed consent
9. No media opacification (e.g., cataract, posterior capsule opacification)
*The uveitis was defined as refractory if there was a history of at least 1 relapse of the disease in the year before enrollment that required an increase of the dose of oral corticosteroid or other immunosuppressive drug to control the episode.
Exclusion
1. Enrollment in other investigative clinical trial
2. Recent serious, recurrent, or chronic infection, including human immunodeficiency virus, hepatitis, or tuberculosis
3. Liver, renal, cardiac, or demyelinating disease
4. Known previous substance abuse or malignancy
5. Intraocular surgery in the 3 months previous to enrollment
6. Transplanted organ

All patients underwent a protein-purified derivative skin test and chest radiography before enrollment because of the risk of tuberculosis reactivation associated with TNF inhibition. Patients diagnosed with latent tuberculosis, defined as a protein-purified derivative skin conversion consisting of an induration of ≥ 5 mm without radiographic or clinical evidence of disseminated or pulmonary disease, received antituberculosis prophylaxis at least 3 weeks before the first dose of adalimumab. All patients with pars planitis were required to undergo magnetic resonance imaging of the brain to rule out demyelinating disease.

Treatment Protocol

Adalimumab was administered on a compassionate off-label use basis except in patients with systemic diseases included in the approved indications of adalimumab, such as rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, plaque-type psoriasis, Crohn's disease, and polyarticular juvenile idiopathic arthritis in children and adolescents aged 13 to 17 years in the case of the Spanish centers. Once enrolled, patients were treated with 40 mg of adalimumab (Humira, Abbott Laboratories, Madrid, Spain) subcutaneously (SC) every other week for 6 months. For children between ages 4 and 12 years with polyarticular juvenile idiopathic arthritis, the recommended dose is 24 mg/m² body surface area up to a maximum single dose of 40 mg SC every other week. The volume of injection is selected according to the weight and height of the patient. Patients (or parents in case of young children) were instructed by a specialized nurse in self-administration of adalimumab.

The associated immunosuppressive therapy started to be tapered after the administration of 3 adalimumab SC injections (week 4). The prednisone dose was reduced every week by 5 mg if there was no evidence of inflammation. Systemic immunosuppressors were progressively reduced, if possible, to 50% of the initial dose. All patients receiving daclizumab, etanercept, or infliximab ceased its administration 1 month before the first injection of adalimumab. The tapering of associated immunosuppressive drugs was performed at the discretion of the investigators at each center according to the evolution of the inflammatory activity of the patients. Patients remained in the study and continued with the adalimumab therapy if a relapse occurred during follow-up and it was controlled with 1 subtenon triamcinolone injection, and there was no need for increasing the dosage of oral corticosteroid or other immunosuppressant drug.

Outcome Variables

Intraocular inflammation was the primary outcome variable, with visual acuity, immunosuppression load, and macular thickness as secondary outcome variables. The outcome variables were recorded, for comparison purposes, at baseline and at the 6-month visit, although they were analyzed in several visits during the 6 months of the study according to particular follow-up protocols of each center. Inflammatory activity was graded according to the Standardization of Uveitis Nomenclature Working Group grading schemes²¹ for the anterior (cells and flare) from grade 0 to 4, representing the level of active inflammation. A modified version of the National Eye Institute system for grading vitreous haze as proposed by the Standardization of Uveitis Nomenclature working group was used.^{21,22} Worsening was defined as a 2-step increase in level of inflammation or an increase from 3+ to 4+ (this was also the adopted definition for relapse during the 6-month of the study duration). Improvement was defined as a 2-step decrease in the level of inflammation or decrease to grade 0.

The best-corrected visual acuity (BCVA) was measured according to the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study protocol adapted by the Age Related Eye Disease Study.²³ Three lines

(± 0.3 logarithm of the minimum angle of resolution [logMAR]; ± 15 letters) of change was chosen as the standard for worsening or improvement in visual acuity, because as reported in previous uveitis clinical trials, this was the minimum necessary number to reflect a clinical significant change.²⁴

The immunosuppression load was assessed with a semiquantitative scale for each medication as described by Nussenblatt et al.²⁵ The grading scheme provides a combined, single numeric score for the total immunosuppression load per unit of body weight per day. Grades for each agent (prednisone, cyclosporine, azathioprine, methotrexate, and chlorambucil) ranged on a scale from 0 to 9, whereas mycophenolate mofetil ranged from 0 to 7. For patients receiving multiple medications, the sum of the grading scores for each drug was used to calculate the total immunosuppression score at the baseline visit and the 6-month visit on a scale from 0 to 15. Topical or periocular corticosteroid therapy was excluded from the calculation of the immunosuppression load. A $\geq 50\%$ reduction in the immunosuppression load was considered a significant reduction in the associated immunosuppressant therapy. The dose of adalimumab was not used to calculate the final immunosuppression load.

Macular thickness was measured by optical coherence tomography (OCT) (Stratus OTC, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA). Changes in the mean 1-mm central foveal retinal thickness served to evaluate the reduction in the cystoid macular edema (CME).

Statistical Analysis

Categoric data are expressed as absolute number and percentages, and continuous data are expressed as mean and standard deviation (SD). Continuous variables were analyzed with the paired *t* test (e.g., immunosuppression load and macular thickness), and qualitative variables (degree of intraocular inflammation) were analyzed with the Wilcoxon signed-rank test. Statistical significance was set at $P < 0.05$. The analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences version 12.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL).

Results

A total of 131 patients, 61 men and 70 women, with a mean (SD) age of 27.4 (18.2) years were included in the study. All patients were followed for 6 months. Uveitis was classified anatomically according to the International Uveitis Study Group classification.²⁶ Forty-four patients (33.6%) had chronic anterior uveitis, 9 patients (6.9%) had intermediate uveitis, 5 patients (3.8%) had posterior uveitis, and 57 patients (43.5%) had panuveitis. The remaining 16 patients had combined anterior and intermediate uveitis ($n = 9$) or combined posterior and intermediate uveitis ($n = 7$). The most common causes were juvenile idiopathic arthritis in 39 patients (29.7%), pars planitis in 16 patients (12.2%), and Behçet disease in 13 patients (9.9%). Twenty-seven patients (20.6%) were classified as having idiopathic forms of uveitis (Table 2).

Changes of outcome variables associated with adalimumab therapy are shown in Table 3. A marked decrease of intraocular inflammation with adalimumab at the 6-month visit was observed. The baseline inflammation was 1.51 in the anterior chamber and 1.03 in the vitreous cavity on the standardized scale; at the 6-month visit, these values were 0.25 and 0.14, respectively. There was a statistically significant difference in the mean intraocular inflammation of the anterior chamber and the vitreous cavity between the initial visit and the 6-month visit (Wilcoxon signed-rank test, $P < 0.001$). During the 6 months of the study, 50 patients (38.2%) experienced reactivation of uveitis, which was severe in only 9 patients (6.8%). Diagnoses in these 9 patients included idiopathic uveitis in 3, juvenile idiopathic arthritis in 2, Behçet disease in 1, intermediate uveitis in 1, inflammatory bowel

Table 2. Cause of Uveitis in 131 Patients

Cause	No. Patients (%)
Juvenile idiopathic arthritis	39 (29.8)
Idiopathic uveitis	27 (20.6)
Pars planitis	16 (12.2)
Behçet disease	13 (9.9)
Vogt-Koyanagi-Harada disease	8 (6.1)
Ankylosing spondylitis	7 (5.3)
Regional enteritis	3 (2.3)
Sarcoidosis	3 (2.3)
Bird-shot chorioretinopathy	3 (2.3)
Multifocal choroiditis with panuveitis	2 (1.5)
Idiopathic oligoarthritis	2 (1.5)
HLA-B27-associated anterior uveitis	2 (1.5)
Systemic lupus erythematosus	1 (0.8)
Rheumatoid arthritis	1 (0.8)
Sjögren's syndrome associated with rheumatoid arthritis	1 (0.8)
Sympathetic ophthalmia	1 (0.8)
Cogan syndrome	1 (0.8)
Psoriatic arthritis	1 (0.8)

HLA = human leukocyte antigen.

disease in 1, and Vogt-Koyanagi-Harada disease in 1. Only one 9-year-old girl with juvenile idiopathic arthritis discontinued the adalimumab therapy and improved with infliximab treatment. The remaining 8 patients did not discontinue the adalimumab therapy because the inflammation was controlled with a subtenon triamcinolone injection of the affected eye.

Visual acuity was $+0.39 \pm 0.44$ (mean \pm SD) logMAR at baseline and $+0.26 \pm 0.39$ logMAR at the study end point. There was a statistically significant difference between the mean baseline visual acuity and the mean visual acuity at the 6-month visit (paired-samples *t* test, $P < 0.001$) in which the mean 6-month visit visual acuity was better than that at baseline.

Visual acuity improved by -0.3 logMAR (+15 letters) in 32 of 150 eyes (21.3%), remained stable in 113 eyes (75.4%), and worsened by $+0.3$ logMAR (-15 letters) in 5 eyes (3.3%) at the 6-month visit.

The mean (SD) macular thickness was 296 (102) μ at baseline and 240 (36) μ at the 6-month visit. There was a significant difference between the pretreatment and the 6-month visit macular thickness (paired-samples *t* test, $P < 0.01$). The OCT macular examination revealed that 40 eyes (30.5%) had CME with clearly visible cystic changes at baseline. There was complete resolution of CME in 28 of these 40 eyes (70%) at the 6-month visit. A subcohort analysis of the 40 eyes with CME was performed. The macular thickness and BCVA at baseline and at the 6-month visit had a negative correlation (Pearson correlation coefficient, $r = -0.4$; $P = 0.04$; and $r = -0.57$; $P < 0.01$, respectively), indicating

that the patients with greater macular thickness had lower visual acuity, and the resolution of the CME in 70% of the patients led to an increase in visual acuity. The mean (SD) macular thickness was 443 (123) μ at baseline and 287 (76) μ at the 6-month visit in patients with CME, with a significant difference (paired-samples *t* test, $P < 0.01$). The mean (SD) BCVA was $+0.43$ (0.67) logMAR (64 letters) at baseline and $+0.24$ (0.5) logMAR (73 letters) at the 6-month visit in patients with CME, with a significant difference (paired-samples *t* test, $P < 0.01$).

Six months after the study presentation, 111 patients (84.7%) were able to reduce at least 50% of their baseline immunosuppression load, which was 8.81 (5.05) and decreased to 5.40 (4.43) at the 6-month visit. There was a significant difference in the mean immunosuppression load between baseline and the 6-month visit (paired-samples *t* test, $P < 0.01$). Table 4 shows the baseline treatment regimens of the patients. The mean dose of corticosteroids also decreased from 0.74 (3.50) to 0.20 (0.57) mg/kg/day ($P < 0.001$).

Adalimumab was well tolerated in all patients during the 6-month follow-up period except for the 9-year-old girl with juvenile idiopathic arthritis. She had a severe uveitis reactivation at the fifth month of administration of adalimumab that required a switch to infliximab therapy to control the episode. Minor side effects at the site of adalimumab SC injection, such as pain, erythema, localized rash, or hemorrhage, were the most common side effects observed. Other adverse effects included 1 case of each of the following complications: fatigue, hypertension, herpes zoster, infectious mononucleosis, and reactivation of chronic hepatitis C virus infection. These patients did not discontinue the treatment protocol, and antivirals were administered according to the viral infection.

Discussion

This is a prospective adalimumab treatment study in a large clinical series of 131 patients, and this anti-TNF- α agent seems to be an effective and well-tolerated treatment for patients with chronic, therapy-resistant, noninfectious uveitis. The effectiveness of adalimumab was demonstrated by a statistically significant decrease of anterior chamber and vitreous cavity inflammation, overall gain in visual acuity, reduction of macular thickness, and decrease of the immunosuppression load. In those patients, in whom there was a loss of efficacy after an initial response to infliximab or etanercept, a satisfactory therapeutic response was achieved with adalimumab as described in other therapeutic indications. The present results confirm findings from a previous pilot study in 19 patients carried out by our group.²⁰

All patients with uveitis who did not have satisfactory inflammatory control with multiple drugs, including pred-

Table 3. Comparison of Outcome Variables before Treatment with Adalimumab and at Final Visit

Variable	Week 0 (Pretreatment Visit)	Month 6 (Final Visit)	P Value
Anterior chamber inflammation	1.51 (1.18)	0.25 (0.46)	<0.001
Posterior chamber inflammation	1.03 (1.21)	0.14 (0.41)	<0.001
Macular thickness, μ	296.95 (102.47)	240.11 (36.1)	<0.001
Immunosuppression load	8.81 (5.05)	5.40 (4.43)	<0.001

Data as mean (standard deviation).

Table 4. Baseline Treatment Regimens of 131 Patients with Noninfectious Refractory Uveitis

Treatments at Baseline	No. (%) of Patients	Immunosuppressant Load at Baseline, Mean (SD)	Immunosuppressant Load at the 6-Month Visit, Mean (SD)
Corticosteroids and MTX	37 (28.2)	6.8 (3.1)	3.6 (3.5)
Corticosteroids and CsA	28 (21.3)	6.5 (3.2)	3.2 (2.8)
Corticosteroids and 1 immunosuppressant,* excluding MTX and CsA	5 (3.8)	9.8 (4.1)	4.4 (3.6)
Corticosteroids and 2 immunosuppressants, excluding biologic therapies [†]	17 (12.9)	10.4 (3.8)	7.2 (4.3)
Corticosteroids, biologic therapies, and ≥ 1 immunosuppressants	27 (20.6)	11.9 (3.2)	7.9 (2.3)
Biologic therapies and 1 immunosuppressant	17 (3.8)	10.1 (3.8)	7.2 (3.6)

CsA = cyclosporin A; MTX = methotrexate; SD = standard deviation.

*List of immunosuppressants used: MTX, CsA, azathioprine, mycophenolate mofetil, cyclophosphamide, tacrolimus, and chlorambucil.

[†]List of biologic therapies used: etanercept, infliximab, and daclizumab.

nisone, infliximab, etanercept, daclizumab, cyclosporine, mycophenolate, chlorambucil, azathioprine, and methotrexate, had a good response with adalimumab, with a marked reduction of intraocular inflammation after 6 months of treatment with 40 mg SC injections of the drug (or 24 mg/m² body surface area as indicated). Continued treatment allowed all patients to discontinue topical steroid therapy, and all patients were able to taper systemic corticosteroid therapy without having high rates of relapses. Some patients (38.2%) had relapses that could be controlled with just subtenon triamcinolone injections; this was not considered a failure of the treatment because there was no need to increase the dose of the associated immunosuppressive drugs. In this study, the dosages of corticosteroids and immunosuppressive agents were allowed to be reduced on the basis of clinical judgment after a defined period of time receiving adalimumab.

However, there is limited experience with the use of adalimumab in the treatment of uveitis. In a recent open-label prospective, comparative, multicenter, cohort study of childhood noninfectious chronic uveitis of 33 patients with a median age of 9.2 years, at 40 months of follow-up, 9 of 15 children taking adalimumab (60%) compared with 3 of 16 children taking infliximab (18.8%) were still in remission on therapy ($P < 0.02$).¹⁸ In a pilot study of 10 patients with different form of refractory uveitis, Callejas-Rubio et al²⁷ reported improvement of intraocular inflammation of the anterior chamber and vitreous cavity in all patients, although treatment with methotrexate was maintained in 8 patients. Of note, in the remaining 2 patients, adalimumab was used as first-line therapy with similar satisfactory results. In the series of 15 patients with different forms of uveitis with no response or lack of tolerability to classic immunosuppressive therapies identified in the database of the Jules Gonin Eye Hospital in Lausanne, clinical and angiographic regression of uveitis was observed within the first 3 months and was maintained through a mean follow-up period of 18 months.²⁸ In addition, adalimumab has been shown to be effective in controlling pediatric uveitis cases,^{16,29,30} sight-threatening uveitis in Behçet disease,³¹ and spondyloarthritis-related uveitis.³² Never-

theless, a larger number of patients and longer follow-up are definitely needed to confirm these observations.

Treatment of refractory uveitis is a challenge that needs weighing the risk of blindness and complications against the toxicity of immunosuppressive and cytotoxic therapy. Moreover, there is also an important concern about the economic impact of anti-TNF- α treatment. Adalimumab has so far demonstrated some preliminary advantages over infliximab, including its subcutaneous route of administration, no need for hospitalization, being less immunogenic and less expensive, and having a more protracted therapeutic response in uveitis.^{16,17,29} However, adalimumab is substantially more expensive than many other immunosuppressive drugs, and it is suitable for only selected patients because most will respond to first-line immunosuppressors.

The treatment was well tolerated without serious adverse events, except for 1 girl with juvenile idiopathic arthritis and severe relapse who discontinued adalimumab therapy and was then successfully treated with infliximab. Injection-site reactions, including pain, erythema, rash, or hemorrhage, were considered to be mild or moderate.

Cystoid macular edema is a major cause of visual loss in patients with uveitis. In the present study, 40 patients had clearly visible cystic changes in the macula per OCT at baseline, and a complete resolution of the CME was found in 28 of these 40 eyes at the 6-month visit, with a significant change in the mean macular thickness. In addition, there was a significant improvement in the BCVA among these patients with a mean improvement of 9 Early Treatment Diabetic Retinopathy Study letters at the 6-month visit. It could be argued that the retinal nerve fiber layer in the macula could be decreased because of thinning or loss of axons and that the decrease in macular thickness does not actually reflect an improvement of the macular edema; however, with OCT, we were able to visualize the real cystic changes at the 6-month visit. The percentage of complete resolution of 70% found in this study is higher than 54.5% observed in the previous pilot study of 19 patients.²⁰

The present findings should be interpreted taking into account some limitations of the study, including the lack of

a comparative arm and the follow-up period restricted to 6 months. In this respect, long-term data on the effectiveness of adalimumab therapy in patients with noninfectious refractory uveitis are warranted.

In conclusion, treatment with adalimumab was associated with an improvement of symptoms and a decrease in inflammatory activity in 131 patients with refractory uveitis of different causes. Adalimumab treatment also allowed a significant reduction of concomitant immunosuppressive therapies.

Acknowledgment. The authors thank Marta Pulido, MD, for writing assistance and extensive editing of the scientific content.

References

1. Smit RL, Baarsma GS. Epidemiology of uveitis. *Curr Opin Ophthalmol* 1995;6:57–61.
2. Chang JH, Wakefield D. Uveitis: a global perspective. *Ocul Immunol Inflamm* 2002;10:263–79.
3. Gritz DC, Wong JG. Incidence and prevalence of uveitis in Northern California: the Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology* 2004;111:491–500.
4. Suttrop-Schulten MS, Rothova A. The possible impact of uveitis in blindness: a literature survey. *Br J Ophthalmol* 1996;80:844–8.
5. Rothova A, Buitenhuis HJ, Meenken C, et al. Uveitis and systemic disease. *Br J Ophthalmol* 1992;76:137–41.
6. Lightman S, Towler H. Immunopathology and altered immunity in posterior uveitis in man: a review. *Curr Eye Res* 1992;11(Suppl):11–5.
7. Becker MD, Adamus G, Davey MP, Rosenbaum JT. The role of T cells in autoimmune uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2000;8:93–100.
8. Taylor SR, Isa H, Joshi L, Lightman S. New developments in corticosteroid therapy for uveitis. *Ophthalmologica* 2010; 224(Suppl):46–53.
9. Murray PI, Sivaraj RR. Anti-TNF-alpha therapy for uveitis: Behçet and beyond. *Eye (Lond)* 2005;19:831–8.
10. Santos Lacomba M, Marcos Martín C, Gallardo Galera JM, et al. Aqueous humor and serum tumor necrosis factor-alpha in clinical uveitis. *Ophthalmic Res* 2001;33:251–5.
11. Pérez-Guijo V, Santos-Lacomba M, Sánchez-Hernández M, et al. Tumour necrosis factor-alpha levels in aqueous humour and serum from patients with uveitis: the involvement of HLA-B27. *Curr Med Res Opin* 2004;20:155–7.
12. Rabinovich CE. Use of tumor necrosis factor inhibitors in uveitis. *Curr Opin Rheumatol* 2007;19:482–6.
13. Imrie FR, Dick AD. Biologics in the treatment of uveitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2007;18:481–6.
14. Neri P, Zucchi M, Allegri P, et al. Adalimumab (Humira): a promising monoclonal anti-tumor necrosis factor alpha in ophthalmology. *Int Ophthalmol* 2011;31:165–73.
15. Rudwaleit M, Rødevand E, Holck P, et al. Adalimumab effectively reduces the rate of anterior uveitis flares in patients with active ankylosing spondylitis: results of a prospective open-label study. *Ann Rheum Dis* 2009;68:696–701.
16. Mansour AM. Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood. *Br J Ophthalmol* 2007;91:274–6.
17. Biester S, Deuter C, Michels H, et al. Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood. *Br J Ophthalmol* 2007;91: 319–24.
18. Simonini G, Taddio A, Cattalini M, et al. Prevention of flare recurrences in childhood refractory chronic uveitis: an open-label comparative study of adalimumab versus infliximab. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63:612–8.
19. Takase K, Ohno S, Ideguchi H, et al. Successful switching to adalimumab in an infliximab-allergic patient with severe Behçet disease-related uveitis. *Rheumatol Int* 2011;31:243–5.
20. Díaz-Llopis M, García-Delpech S, Salom D, et al. Adalimumab therapy for refractory uveitis: a pilot study. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008;24:351–61.
21. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the first international workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140:509–16.
22. Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, et al. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology* 1985;92:467–71.
23. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The Age-Related Eye Disease Study (AREDS): design, implications. AREDS report no. 1. *Control Clin Trials* 1999;20:573–600.
24. Jaffe GJ, Martin D, Callanan D, et al. Fluocinolone Acetonide Uveitis Study Group. Fluocinolone acetonide implant (Retisert) for noninfectious posterior uveitis: thirty-four-week results of a multicenter randomized clinical study. *Ophthalmology* 2006;113:1020–7.
25. Nussenblatt RB, Peterson JS, Foster CS, et al. Initial evaluation of subcutaneous daclizumab treatments for noninfectious uveitis: a multicenter noncomparative interventional case series. *Ophthalmology* 2005;112:764–70.
26. Deschenes J, Murray PI, Rao NA, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group (IUSG) clinical classification of uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2008;16:1–2.
27. Callejas-Rubio JL, Sánchez-Cano D, García Serrano JL, Ortego-Centeno N. Adalimumab therapy for refractory uveitis: a pilot study [letter]. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008;24:613–4; author reply 614.
28. Petropoulos IK, Vaudaux JD, Guex-Crosier Y. Anti-TNF-alpha therapy in patients with chronic non-infectious uveitis: the experience of the Jules Gonin Eye Hospital. *Klin Monbl Augenheilkd* 2008;225:457–61.
29. Vazquez-Cobian LB, Flynn T, Lehman TJ. Adalimumab therapy for childhood uveitis. *J Pediatr* 2006;149:572–5.
30. Tynjälä P, Kotaniemi K, Lindahl P, et al. Adalimumab in juvenile idiopathic arthritis-associated chronic anterior uveitis. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47:339–44.
31. Mushtaq B, Saeed T, Situnayake RD, Murray PI. Adalimumab for sight-threatening uveitis in Behçet's disease. *Eye (Lond)* 2007;21:824–5.
32. Guignard S, Gossec L, Salliot C, et al. Efficacy of tumour necrosis factor blockers in reducing uveitis flares in patients with spondyloarthritis: a retrospective study. *Ann Rheum Dis* 2006;65:1631–4.